Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, F. Tangl-Budapest, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

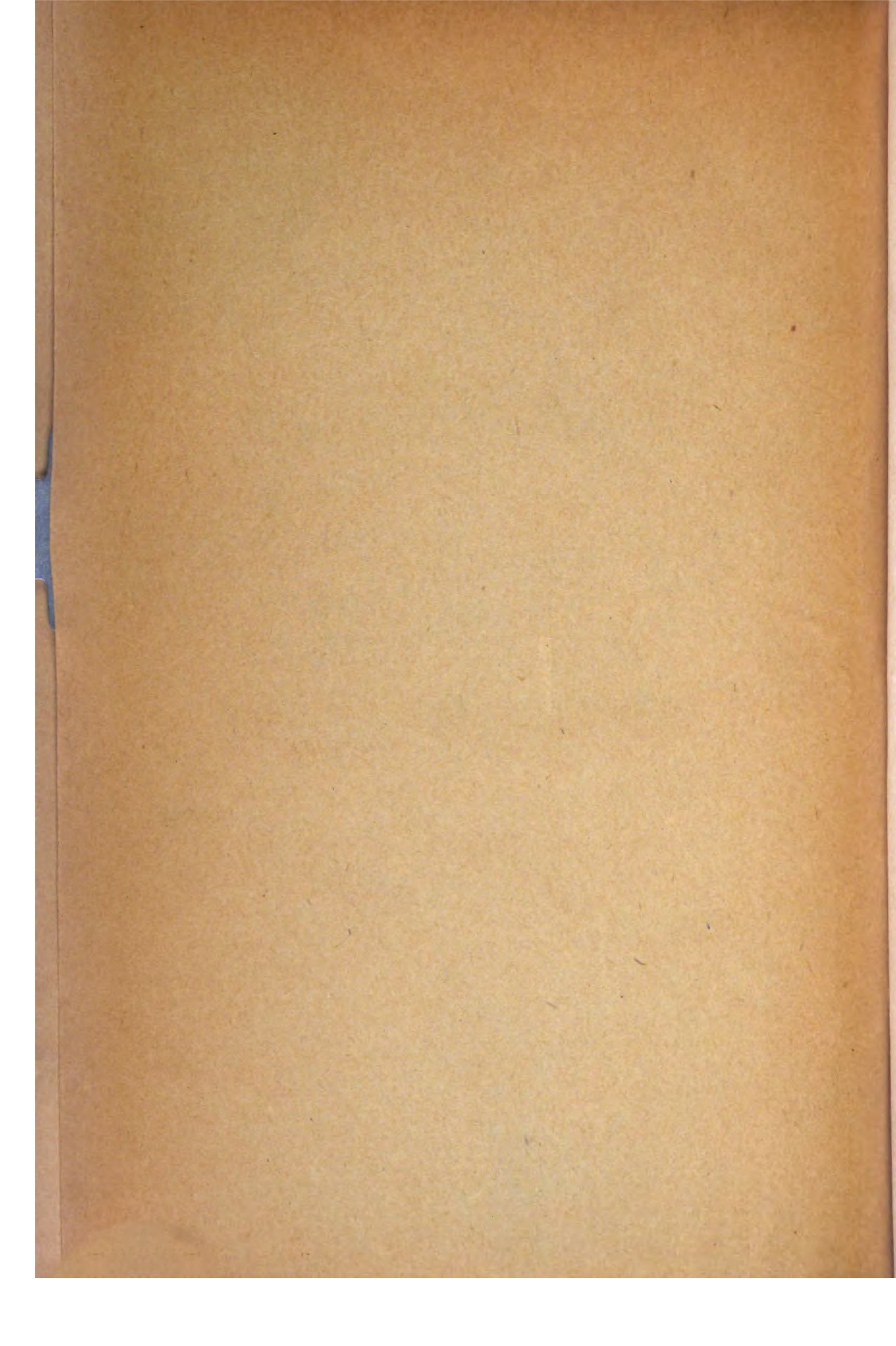
Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Achtundsechzigster Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1915.



Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, **P. Ehrlich**-Frankfurt a. M., **F. Hofmeister**-Straßburg i. Els., **C. von Noorden**-Frankfurt a. M., **E. Salkowski**-Berlin, **F. Tangl**-Budapest, **A. von Wassermann**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Achtundsechzigster Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1915.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Grafe, V. Untersuchungen über die Zichorie 1

Jacoby, Martin und **N. Umeda.** Über die Einwirkung von Serum und von Aminosäuren auf Ureasen 23

Krauß, Friedericke. Über die Wassermannsche Reaktion im normalen Menschenserum 48

Thorsch, Margarete. Untersuchungen über die 3. Komponente des Komplementes 67

Mc Kelvie, James P. und **Jacob Rosenbloom.** Über den Cholesterinstoffwechsel in einem Falle von angeborener hämolytischer Gelbsucht mit Splenomegalie 78

Morgenroth, J. und **R. Bieling.** Amboceptoren und Receptoren. (Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Geschwulstimmunität.) I. . 85

Völtz, Wilhelm und **Walter Dietrich.** Über die Geschwindigkeit der Alkoholresorption und -Oxydation durch den an Alkohol gewöhnten, bzw. durch den nicht daran gewöhnten tierischen Organismus. Die Beteiligung des Alkohols am Gesamtstoffwechsel 118

Pechstein, Heinrich. Die Reaktionen des ruhenden und arbeitenden Froschmuskels 140

Hirschfeld, L. und **R. Klinger.** Beiträge zur Physiologie der Blutgerinnung. IV. 163

Meissner, Richard. Über die quantitative Bestimmung der Milchsäure in Organextrakten als Kohlenoxyd 175

Doby, G. und **J. Bodnár.** Über Pflanzenenzyme. III. Pathologische Veränderungen der Kartoffelamylase 191

Hasselbalch, K. A. und **S. A. Gammeltoft.** Die Neutralitätsregulation des graviden Organismus 206

Hasselbalch, K. A. und **J. Lindhard.** Zur experimentellen Physiologie des Höhenklimas. II. 265

Hasselbalch, K. A. und **J. Lindhard.** Zur experimentellen Physiologie des Höhenklimas. III. 295

Grimmer, W. Beiträge zur Kenntnis der Hundemilch 311

Scaffidi, Vittorio. Über die Fähigkeit der normalen und der der fettigen Degeneration verfallenen überlebenden Froschleber, Zucker zu bilden 320

Seite

Salkowski, E. Zur Kenntnis einiger Formaldehydreaktionen 337

Jolles, Ad. und **Erw. Schwenk.** Beitrag zur Darstellung des indoxylschwefelsauren Kaliums (Indican) 347

Vanýsek, Fr. Berichtigung zur Arbeit: Beiträge zur physiologischen Wirkung einiger proteinogener Amine 350

Erlenmeyer, Emil. Asymmetrische Synthese der Mandelsäure, Entstehung von Benzylidenweinsäureester und Benzylidenweinsäure 351

Löb, Walther. Beiträge zur Frage der Glykolyse. IV. 368

Herzfeld, E. Beiträge zur Chemie der proteolytischen Fermente . . 402

Bernardi, Alessandro und **Emma Fabris.** Über das Pepton. II. . . . 436

Bernardi, Alessandro und **Emma Fabris.** Über das Pepton. III. . . 441

Zahn, Kurt. Über das Schicksal des Papaverins im tierischen Organismus 444

Voigt, J. Über die Verteilung und das Schicksal des kolloiden Silbers im Säugetierkörper. III. 477

Autorenverzeichnis 510

Untersuchungen über die Zichorie.

Von

V. Grafe.

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien, Nr. 72 der zweiten Folge.)

(Eingegangen am 14. August 1914.)

Mit 1 Figur im Text.

Im Stoffwechsel der Compositen und der Gruppen, die diesen nahestehen, also der Campanulaceen, Lobeliaceen, Stylidiaceen und Goodeniaceen, spielt das Inulin, das Polysaccharid der Fructose, dieselbe Rolle wie in den anderen Pflanzen die Stärke. Ich habe mit V. Vouk[1]) zeigen können, daß dieses komplexe Kohlenhydrat nicht nur, wie bis dahin vielfach angenommen worden war, in den Reservestoffbehältern vorkommt, sondern ebenso wie die Stärke in direkter Beziehung zur Assimilationstätigkeit des Blattes steht und auch in seinen Zwischen- und Abbauprodukten sich der Stärke in der Pflanze völlig analog verhält, und daß auch Übergänge von Inulin zu Stärke im Stoffwechsel der Inulinpflanzen vorkommen, die sich schon aus der leichten Umwandelbarkeit von Fructose in Glucose erklären.

Noch die älteren Bearbeiter der Inulinpflanzen, G. Dragendorff[2]), G. Kraus[3]), K. Prantl[4]), H. Fischer[5]), fanden Inulin

---

[1]) V. Grafe und V. Vouk, Untersuchungen über den Inulinstoffwechsel bei Cichorium Intybus L. I, II, III. Diese Zeitschr. **43**, 47, 1912; **56**, 249, 1913; Zeitschr. f. Gärungsphysiol. **3**, 1913.

[2]) G. Dragendorff, Materialien zu einer Monographie des Inulins. Pharm. Ztg. f. Rußland 1870.

[3]) G. Kraus, Das Inulinvorkommen außerhalb der Compositen. Botan.-Ztg. **35**, 1877.

[4]) K. Prantl, Das Inulin. München 1870.

[5]) H. Fischer, Über Inulin, sein Verhalten außerhalb und innerhalb der Pflanze. Beiträge z. Biol. d. Pflanzen 8, 1902.

nur in den Reservestoffbehältern der Inulinpflanzen, wogegen wir zeigen konnten, daß es bei der Assimilationstätigkeit derselben eben diese Rolle spielt wie die Stärke, daß es sich auch im Samen findet und in Form von Fructose im Stengel wandert.

Ich habe mir die Aufgabe gestellt, den Stoffwechsel der Inulinpflanzen genau zu verfolgen und nicht nur eine ganze Reihe solcher Pflanzen in den Bereich der Untersuchung zu ziehen, sondern die Umsetzungen des Inulins in der Pflanze makrochemisch zu verfolgen, da die bisherigen Arbeiten, die ausschließlich mikrochemische Methoden anwendeten, infolge des Umstandes, daß Inulin nur aus konzentrierten Lösungen in Sphärokrystallen ausfällt, in wesentliche Irrtümer verfallen waren. Als erste hierzu gehörige Pflanze wurde die Zichorie in Angriff genommen, und zwar deshalb, weil diese Pflanze bekanntlich als Genußmittel eine Rolle spielt. Zum Genußmittel wird die Zichorie durch den Gehalt ihrer Wurzel an Inulin und einem Bitterstoff, die, wie wir sehen werden, genetisch zusammenhängen, besonders geeignet; aber die Zichorie wird nicht in rohem Zustande genossen, sondern zunächst geröstet, wobei aus vorhandenen Muttersubstanzen eine Reihe von für Geschmack und vielleicht auch für die physiologische Wirkung maßgebenden Substanzen entsteht. Molisch[1]) sagt in der Einleitung zu seinem „Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel“ folgendes: „... halte ich es für zeitgemäß, auf der geschaffenen Grundlage vorzuschreiten und die Chemie derartiger Objekte mit Rücksicht auf ihre Gewebe und Zellen zu prüfen, namentlich aber die Aufmerksamkeit darauf zu richten, wo denn die sogenannten wirksamen Stoffe der Genußmittel ihren Sitz haben.“ Der Anregung dieses Forschers, dem wir so viele pflanzenphysiologisch wichtige Funde verdanken, die auch für die Technik der pflanzlichen Rohstoffe von höchster Bedeutung geworden sind, folgend, habe ich schon in der Kaffeebohne die Hemicellulosen und Pentosane als die Muttersubstanzen des wirksamen Anteils der Kaffeeröststoffe aufzeigen können. Es war von Interesse, auch bei der Zichorie Ähnliches zu versuchen. Der Gedanke, von dem ich ausging, war der: In

[1]) H. Molisch, Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel. Jena 1891.

In der Trockensubstanz der Keimpflanze sind enthalten:

Boden	Asche %	Davon Kalk %	Davon Magnesia %	Davon Alkalien %	Rohfaser %	Inulin %	Lävulose %	Bitterstoff
Humusboden, Böhmen	9,32	9,80	6,80	27,20	6,21	2,01	3,00	Nicht bestimmbar
Lehmboden, Böhmen	11,76	15,20	10,70	26,93	3,89	3,60	1,90	do.
Humusreicher Sandboden, Oberungarn	12,99	17,40	11,76	28,00	3,40	3,80	2,80	0,012%
Gebundener gelber Boden, Oberungarn	8,89	11,19	9,32	27,65	3,10	3,20	1,57	Nicht bestimmbar
Sandboden, Böhmen	12,00	15,61	12,00	26,83	4,06	4,30	1,83	0,032%
Schwarzer, sandgemischter Boden, Kroatien	7,65	9,98	6,50	27,00	5,62	2,20	2,63	Spuren
Sandgemischter Lehmbod., Kroatien	13,21	17,98	10,02	27,80	2,54	4,70	2,45	0,042%
Lehmboden, etwas Sand, Westungarn	14,11	18,76	12,92	27,50	2,00	4,88	1,98	0,048%

In der Trockensubstanz der Wurzel sind enthalten:

Boden	Wasser %	Asche %	Gesamtstickstoff %	Eiweißstickstoff %	Fett %	Rohfaser %	Lävulose %	Inulin %	Bitterstoff %
Humusboden, Böhmen	8,11	5,00	1,22	0,31	0,29	5,55	5,11	47,60	0,099
Lehmboden, Böhmen	6,97	5,32	1,59	0,37	0,38	4,00	6,30	55,60	0,065
Humusreicher Sandboden, Oberungarn	7,62	4,93	1,87	1,11	0,58	5,00	7,55	58,63	0,121
Gebundener gelber Boden, Oberungarn	8,60	7,28	2,83	0,47	0,38	5,01	7,21	54,63	0,062
Sandboden, Böhmen	6,88	4,51	2,52	1,00	0,82	4,42	8,65	57,60	0,083
Schwarzer, sandgemischter Boden, Kroatien	8,21	5,46	1,82	0,41	0,42	6,18	5,43	48,90	0,186
Sandgemischter Lehmbod., Kroatien	7,50	5,87	2,00	0,93	0,40	3,00	7,00	58,90	0,070
Lehmboden, etwas Sand, Westungarn	9,35	7,00	2,57	1,11	0,93	4,00	9,32	61,81	0,032

welchem Verhältnis bilden sich die für die Zichorie wesentlichen Substanzen Inulin, Bitterstoff, Rohfaser in der Pflanze, wenn diese auf verschiedenartigem Boden gezogen wird, und wie verhält sich dazu die Menge dieser Stoffe in der Wurzel? Mit anderen Worten also: Inwieweit bestehen Beziehungen zwischen Assimilations- und Speicherungstätigkeit der Pflanze und der Zusammensetzung des Bodens? Es wurde Wert darauf gelegt, mit Freilandpflanzen zu arbeiten, die mir aus verschiedenen Anbaugebieten der Monarchie zur Verfügung gestellt wurden. Es handelt sich hauptsächlich um kalkarmen Humusboden, silicatreichen Lehmboden und kalkreichen Sandboden. Die Analysen, die seit zwei Jahren durchgeführt wurden, sind in der vorstehenden Tabelle wiedergegeben.

Wenn man die für Keimpflanzen einerseits und für Wurzeln andererseits erhaltenen Zahlen vergleicht, so ergibt sich zunächst ein gewisser Parallelismus bezüglich des Bodens und der Mineralstoffaufnahme einerseits, der Bildung der organischen Bestandteile wie Inulin, Bitterstoff, Rohfaser andererseits. In lockerem, wasserreichem Medium vermindern sich im allgemeinen Inulin und Bitterstoff, während sich der Betrag an Rohfaser erhöht, entsprechend der allgemeinen physiologischen Erfahrung, daß Trockenheit die Kondensation, Feuchtigkeit die Hydrolysenvorgänge begünstigt. Dagegen ist die Aufnahme der Erdalkalien in lockeren feuchten Böden stark herabgemindert, im Lehm- und Sandboden viel bedeutender, während der Betrag von Alkalien in der Asche ziemlich konstant bleibt. Offenbar spielen hier nicht die Verhältnisse der direkten Mineralsalzaufnahme durch die Wurzel, sondern vielmehr geänderte Permeabilitätsbeziehungen eine Rolle. Man muß natürlich auch daran denken, daß für die gefundenen Resultate nicht allein die chemischen und physikalischen Bodenverhältnisse, sondern auch in gleichen Böden klimatische und andere Verhältnisse eine Rolle spielen.

Historisches.

Schon in den ältesten Zeiten wurde die Zichorie verwendet und zwar in erster Linie als Heilmittel. Mit richtigem Instinkt hat sich der Mensch denjenigen Bestandteil nutzbar gemacht, der die wertvollsten Stoffe enthält, nämlich die Wurzel; später wurden aber auch die Blätter der Zichorienart Endivie zum Genuß herangezogen und es hat sich ja

durch meine Untersuchungen gezeigt, daß tatsächlich auch die Blätter nicht nur den Bitterstoff, sondern erhebliche Mengen Inulin enthalten. Während die nahrhaftesten Gemüsearten, wie Rosenkohl und Spargel, nur 2 bis 3 % Kohlenhydrate enthalten, ist in den Zichorienblättern ein Gehalt von 5 bis 7 % die Norm, was vielleicht auch für die Ernährung des Diabetikerorganismus Bedeutung besitzt[1]). Die Zichorie ist bei den verschiedenen Völkern Europas schon seit Jahrhunderten bekannt und in Verwendung; vielleicht beruht ihre vielfache Benutzung und die ihres Absudes bei Stoffwechselanomalien gerade auf der unbewußten Betonung des Inhaltstoffes Inulin. Viel mehr Inulin (bis 65 %) enthält jedoch die Wurzel, und auch sie wurde seit altersher als Magenarzneimittel verwendet, vermutlich wegen des Bitterstoffes, der auch den Endiviensalat zum Genußmittel macht. Ausführliche Daten aus der Geschichte des Zichoriengebrauchs sind an verschiedenen Stellen niedergelegt[2]).

Wodurch zuerst der Gedanke gefunden wurde, die Zichorienwurzel zu rösten, ist schwer zu sagen, wahrscheinlich wurden, als einmal die Wurzel zur Medikamentengewinnung getrocknet worden ist, die Aromata wahrgenommen, die vielleicht durch allzu hohes Erhitzen entstanden. Tatsächlich macht sich bei intensiver Trocknung der Zichorie ein angenehmer Brotgeruch bemerkbar, und diese Aromata sind ja tatsächlich den Dextrinen des Brotes resp. des Mehles ganz analog, nur daß sie nicht aus Stärke, sondern aus dem Polysaccharid Inulin entstehen; die Analogie geht so weit, daß sich beim Rösten auch die Menge reduzierenden Zuckers stark erhöht. Nach meinen Erfahrungen sind aber die Zahlen, welche die verschiedenen Untersucher hier erhielten, und die sie auf Fruktose beziehen (Hueppe bezieht auf Dextrose; dies scheint mir jedoch insofern nicht ganz richtig, als bei der Hydrolyse von Inulin der Hauptmenge nach die linksdrehende Monose und nur im Verhältnis 12:1 auch Glucose entsteht), nicht ausschließlich durch Monosaccharide hervorgerufen. Ebenso wie die Dextrine alkalische Kupferlösung reduzieren, so auch die hochmolekularen Abbaustufen des Inulins und sie sind es zum Teil, die die unglaublich großen Mengen Fruktose in der gerösteten Zichorie vortäuschen, die auf Kosten des abnehmenden Inulins entstanden sind. Aus diesen Abbauprodukten entsteht dann auch das Röstbitter

---

[1]) H. Strauß, Therapie der Gegenwart 1911, Augustheft und Berl. klin. Wochenschr. **49**, 1213, 1912. — V. Grafe, Naturwissenschaften, Augustheft 1913.

[2]) M. Kronfeld, Volksmedizin, C. Hartwich, Die menschlichen Genußmittel, J. Paechtner, Zur Kenntnis der physiologischen Wirkungen des Zichorienaufgusses. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel **1912**. — O. Schmiedeberg, Historische und experimentelle Untersuchungen über die Zichorie- und den Zichorienkaffee in diätetischer und gesundheitlicher Beziehung. Arch. f. Hygiene **76**, 210, 1912. — J. Olschowy, Über den Zichorienanbau und dessen Rentabilität. Graz 1912. — F. Hueppe, Untersuchungen über die Zichorie. Berlin 1908.

und die Aromastoffe. Es ist bemerkeuswert, daß dieser Prozeß völlig dem Naturprozeß analog ist, durch den ebenfalls aus Abbaustoffen des Inulins der natürliche Bitterstoff gebildet wird.

Chemische Untersuchungen.

Die aus verschiedenen Anbaugebieten und Bodenarten herstammenden und mir zur Verfügung gestellten Wurzeln ergaben die in den vorstehenden Tabellen aufgeführten Werte. Die Wurzeln stammten aus der Ernte 1912 und wurden sogleich nach dem Eintreffen jeweils gewaschen und die Rinde mit einem stumpfen Messer abgeschabt. Darauf wurden die Wurzeln mit dem Hackmesser in möglichst kleine Stücke geschnitten und mit einer starken Hebelpresse ausgepreßt. Die ausgepreßten Stücke wurden dann in Porzellanschalen durch etwa 3 tägiges Trocknen auf dem Wasserbade so lange stehen gelassen, bis sie sich mit der Mühle zerkleinern ließen. Der Preßsaft wurde für sich getrocknet und behandelt, die hier gewonnenen Werte mit jenen aus den ausgepreßten Wurzeln vereinigt. Die angeführten Zahlen beziehen sich auf die nach dem Zermahlen bis zur Gewichtskonstanz auf dem Wasserbade getrocknete Wurzelmenge; zu einer Bestimmung wurden je drei Wurzeln verwendet, die Bestimmung der Feuchtigkeit erfolgte durch Trocknen der mit dem Reibeisen geriebenen Wurzel bei 110° bis zur Gewichtskonstanz. Der Extraktgehalt wurde durch genau einstündiges Kochen von je 100 g getrockneter Wurzel mit 500 g Wasser bestimmt, der Ätherextrakt durch entsprechende Behandlung im Soxhletapparate. Die Bestimmung der Rohfaser erfolgte nach dem Glycerin-Schwefelsäureverfahren von J. König, wobei die Rohfaser als aschefreie Rohfaser in Rechnung gestellt wurde.

Als Rohfaser berechnet man bekanntlich den in verdünntem Alkali und Säure unlöslichen Anteil pflanzlicher Stoffe. Es kommen also dabei neben Cellulose auch Ligninsubstanzen, Hemicellulosen, Pentosane usw. in Betracht. Da physiologisch kaum die einzelnen Bestandteile eine Rolle spielen, sondern lediglich die Summe jener die Rohfaser bildenden Bestandteile, die keinen Anteil an den Extraktstoffen nehmen, wurde von einer analytischen Trennung derselben Abstand genommen.

Die Zahlen der angeführten Tabellen beziehen sich auf getrocknetes Material.

Darstellung des Bitterstoffes.

Da die Zichorienwurzel, wie später noch darzulegen, weder ein Alkaloid, noch einen Gerbstoff im chemischen Sinne enthält, bleibt als einziger physiologisch möglicherweise noch wirksamer Stoff der native Bitterstoff der Zichorienwurzel übrig, dessen Erforschung kürzlich O. Schmiedeberg[1]) in Angriff genommen hat. Schmiedebergs Untersuchungen beschäftigten sich namentlich mit der physiologischen Seite der Frage, während sie die Reindarstellung des von ihm „Intybin" genannten Bitterstoffes und dessen chemische Charakterisierung nicht anstrebten.

Es ist in der Tat nach meinen Erfahrungen nicht ganz leicht, den Bitterstoff, der eine äußerst labile Substanz darstellt, unverändert zu gewinnen, und sicherlich ist in der gerösteten Wurzel überhaupt der native Bitterstoff nicht mehr enthalten, sondern dessen Abbauprodukte. Als sehr wesentlich für eine möglichst wenig eingreifende Abscheidung des Bitterstoffes erkannte ich die sorgfältige vorhergehende Behandlung der frischen Wurzel mit einem Gemisch von Petroläther und Äther, in dem der Bitterstoff kaum löslich ist.

Die möglichst fein gehackte Wurzel wurde zu diesem Zwecke zunächst so eingehend als möglich abgepreßt, der Preßsaft im Schacherlapparat und die ausgepreßten Wurzelstücke im Soxhletextraktor mehrere Tage unter steter Erneuerung der Extraktionsflüssigkeit ausgezogen. Die extrahierte Flüssigkeit resp. feste Substanz wurde mit 96%igem Alkohol, dem eben bis zur sauren Reaktion Weinsäure zugefügt worden war, am Rückflußkühler kurze Zeit erwärmt, wobei die Behandlung im luftverdünnten Raume unter Durchleiten von Stickstoffgas mittels einer Capillare vorgenommen wurde, so daß die Temperatur des auf dem Wasserbade befindlichen Kolbens nicht über 20° stieg. Der Alkohol wurde im Vakuum zum größten Teile abdestilliert, der leicht gelbliche Sirup unter fortwährendem Umrühren mit Wasser aufgenommen und mehrere Stunden mit Äther geschüttelt. Der wässerige Extrakt enthält nun den ganzen Bitterstoff.

Es wurde mit frisch geglühter Tierkohle geschüttelt, die den Bitterstoff aufnimmt, worauf derselbe durch Auskochen mit Alkohol gewonnen werden kann und nach Abdunsten desselben als glashelle, farblose, gallertartige Masse von stark bitterem, nachhaltigem Geschmack zurückbleibt. Er löst sich in fast

[1]) O. Schmiedeberg, Arch. f. Hygiene 76, 1912.

allen Lösungsmitteln mit Ausnahme von Petroläther und Äther und reduziert Fehlingsche Lösung. Wird zur Lösung konzentrierte Schwefelsäure und einige Tropfen einer Auflösung von α-Naphthol gegeben, so bildet sich an der Berührungsstelle eine tiefviolette Zone. Nach halbstündigem Kochen der Lösung des Bitterstoffes mit verdünnter Mineralsäure erscheint die Reduktionskraft gegenüber Fehlingscher Lösung stark erhöht. Daß Zucker abgespaltet wurde, lehrt die Darstellung des Osazons durch Phenylhydrazinchlorhydrat und Natriumacetat. Der abgespaltene Zucker ist Lävulose, wie die Darstellung des Methylphenylosazons und die Möglichkeit zeigt, den gebildeten Zucker durch dreistündiges Kochen mit sechsfach normaler Salzsäure zu zerstören. Der mit Salzsäure erwärmten Lösung läßt sich mit Äther ein Körper in schönen Krystallen entziehen, der sich bei der elementaranalytischen Prüfung als Protokatechusäure erwies; auch die hierfür charakteristischen Phenolreaktionen fielen positiv aus. Wir haben also im Bitterstoff der Zichorie ein Glucosid aus einem aromatischen Aldehyd vom Protokatechutypus und Lävulose vor uns.

Wenn man junge Keimpflanzen der Zichorie aus Samen zieht, kann man schon nach wenigen Tagen der Assimilationstätigkeit sehr zahlreiche rundliche Körnchen beobachten, die zu vier bis fünf zu einem Haufwerk vereinigt sind und die schon im äußeren Anblick von Stärke abweichen und sich mit Jod-Chloralhydrat braun färben. Bei der Behandlung mit Oxydationsmitteln wie Wasserstoffsuperoxyd und Erwärmung treten Substanzen auf, deren Extrakt die Reaktionen der Protokatechusäure gibt.

Ich möchte deshalb der Anschauung Ausdruck geben, daß es sich bei der aromatischen Komponente des Bitterstoffes um Abbauprodukte des Inulins handelt, die durch Oxydation so verändert worden sind, daß sie zur Paarung mit Zucker geeignet werden. Denn die genannten dextrinartigen Körperchen sind als Abbauprodukte des Inulins zu betrachten, die unter verschiedenen Namen als Lävulin, Synanthrose usw. beschrieben worden sind. Aus solchen jungen Keimpflanzen läßt sich durch Extrahieren mit Wasser ein Auszug erhalten, der durch Behandlung mit alkalischem Kaliumpermanganat in der Kälte den Farbenreaktionen nach Protokatechusäure ergibt. Über welche

Zwischenprodukte die Bildung des aromatischen Komplexes erfolgt, der offenbar sofort im Blatte die Paarung mit Lävulose erfährt, ist bis jetzt nicht festgestellt, ebensowenig wie es bis jetzt gelungen ist, mikrochemische Reaktionen auf den Bitterstoff zu finden, von dem es wahrscheinlich ist, daß er sich als gelöster Stoff im Milchsafte bewegt.

Es ist nicht uninteressant, daß während der Winterruhe, besonders aber bei starker Kälte, der Bitterstoff aus der Wurzel verschwindet, offenbar durch Spaltung des Glucosides und anderweitige Verwendung der aromatischen Komponente. Bei der elementaranalytischen Bestimmung des Bitterstoffes zeigte es sich, daß trotz der äußerlichen Einheitlichkeit die Substanz keine konstanten Verbrennungswerte liefert, so daß es sich auch hier noch um ein Gemenge nahe verwandter Stoffe handeln dürfte, Abbauprodukte des Bitterstoffes, die sich vielleicht bei der chemischen Isolierung bilden. Wahrscheinlich ist es überhaupt unmöglich, den Bitterstoff unverändert aus dem Milchsaft zu isolieren. Die Quantität des Glucosides, das auf diese Weise dargestellt werden kann, ist äußerst gering und beträgt im Maximum 0,2 $^0/_0$, auf Trockensubstanz der Wurzel gerechnet. Über die absolute physiologische Unschädlichkeit des Intybins gibt uns die wiederholt genannte Untersuchung von O. Schmiedeberg Aufschluß.

Da beim Rösten gerbstoffhaltiger Pflanzenstoffe Substanzen entstehen können, die physiologisch wirksam sind, wurde die Zichorienwurzel auf das Vorhandensein von Gerbstoff eingehend untersucht. Die zerkleinerte frische und in Parallelversuchen auch die getrocknete und geröstete Wurzel wurde mit einem Gemenge von 4 Teilen Äther und einem Teil Alkohol extrahiert, der Auszug im Scheidetrichter mit dem dritten Teile seines Volumens an Wasser ausgeschüttelt. Die wässerige Lösung wurde wiederholt mit Äther ausgeschüttelt und schließlich das Wasser im Vakuum abdestilliert. Der gallertartige Rückstand wurde mit wenig Alkohol aufgenommen und eine gesättigte Kochsalzlösung zugefügt. Nach Abfiltrieren der Verunreinigungen wurde durch Zusatz von Kochsalz eine Abscheidung der eventuellen Gerbsäure versucht und das Ganze schließlich mit Essigäther ausgeschüttelt. Der nach Verdampfen des Essigäthers hinterbleibende gallertartige Rückstand zeigte die Farbenreaktionen

der ortho-disubstituierten Phenole mit Eisenchlorid und verhielt sich in bezug auf den Mangel an Stickstoff, die angenäherten elementar-analytischen Daten usw. ganz so wie der Bitterstoff. Ein Vorhandensein von besonderen, im chemischen Sinne des Wortes gerbstoffartigen Komponenten kann nicht konstatiert werden. Sehr häufig ergibt sich nach den Forschungen Gorters in Pflanzenorganen das Vorhandensein von Chlorogensäure, die vielleicht auch im Kaffee bei der Entstehung bestimmter Anteile des Kaffeols mitwirkt. Um das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von Chlorogensäure zu konstatieren, wurde die getrocknete Wurzel mit 60%igem Alkohol wiederholt perkoliert, das Perkolat zur Entfernung von Pektinstoffen in starken Weingeist eingegossen, der Alkohol nach dem Filtrieren im Vakuum abgedampft und nach mehrmaliger Wiederholung dieses Verfahrens der Extrakt zum Krystallisieren aufgestellt: es resultierte stets die bekannte gallertartige Masse des Bitterstoffes, ohne daß im geringsten eine von den sehr empfindlichen, von Gorter beschriebenen Reaktionen auf Chlorogensäure ein positives Ergebnis lieferte.

Es darf demnach als Resultat dieser Untersuchungen der Satz ausgesprochen werden, daß die Zichorie weder einen Gerbstoff, noch Chlorogensäure, noch ein Alkaloid enthält, sondern von hierher gehörigen Stoffen ausschließlich einen Bitterstoff, der aber nur seinem Geschmack, nicht aber seiner chemischen Eigenart nach sich als Bitterstoff darstellt, vielmehr den Charakter eines Glucosides zeigt, dessen Zuckerkomponente Lävulose, dessen Nichtzuckerkomponente ein aromatischer Stoff von Protokatechutypus ist, der vielleicht aus den dextrinartigen Abbauprodukten des Inulins durch Oxydation und Ringschließung entsteht.

Die wesentlichste Veränderung des Bitterstoffes vollzieht sich beim Rösten der Zichorie. Aus der gerösteten Zichorie läßt sich durch das erwähnte Verfahren kein Rückstand gewinnen, der die bezeichneten Farbenreaktionen gäbe. Wenn man aber den Darstellungsversuch des Bitterstoffes so weit durchführt, bis man zu dem wässerigen Extrakt kommt und diesen nun, statt ihn durch Tierkohle zu filtrieren, mit Äther ausschüttelt, so erhält man zahlreiche farblose Krystallprismen nach dem

Abdunsten des Äthers, die sich aus Wasser mit Leichtigkeit umkrystallisieren lassen und sich in warmem Alkohol und in Äther lösen, aber in Benzol und Petroläther unlöslich sind. Die Substanz schmeckt herb, zusammenziehend, gerbstoffartig, und wenn geröstete Zichorienwurzeln mitunter einen solchen Geschmack zeigen, der die Anwesenheit von Gerbstoff vortäuschen könnte, so ist dieses Spaltungsprodukt des nativen Bitterstoffes die Veranlassung. Die Elementaranalyse der bei 110° getrockneten Substanz lieferte folgende Zahlen:

C 2275 g Subst. ergaben 0,4495 g CO_2 und 0,0837 g H_2O
O 1793 g " " 0,3550 g CO_2 und 0,0677 g H_2O

in 100 Teilen gefunden	I	II	berechnet für $C_7H_6O_4$
C	53,9	54,0	54,7
H	4,1	4,2	3,9
C	42,0	41,8	41,4

Die Substanz gibt, in heißem Wasser aufgelöst und etwas angesäuert, mit Eisenchlorid eine Grünfärbung, die auf Zusatz von Sodalösung in ein tiefes Rot übergeht. Die Substanz ist ursprünglich als Kalisalz vorhanden und läßt sich durch Ansäuern mit Schwefelsäure leicht in freier Form gewinnen; die Kalibestimmung ergab als Kaligehalt 20,62 %, während derselbe für protokatechusaures Kali mit 20,31 % sich berechnet. Die vorliegende, als Spaltungsprodukt des Bitterstoffes erkannte Substanz ist somit als Protokatechusäure charakterisiert.

Es möge an dieser Stelle nicht unerwähnt bleiben, daß Protokatechualdehyd und Protokatechusäure in wässeriger oder alkoholischer Lösung die Tendenz haben, sich unter Oxydation mit zahlreichen aromatischen Verbindungen zu Komplexen von Farbstoffcharakter zu kondensieren. Vielleicht liegt hierin auch der Zusammenhang mit der prachtvollen lachsroten Färbung, der Zichorienschnitte unterliegen, wenn man sie an der Luft liegen läßt. Für die Richtigkeit dieser Hypothese spricht auch der Umstand, daß auch diese Färbung bei Ausschluß von Sauerstoff, z. B. im Chloroformdampf, sich nicht einstellt.

Die Veränderung und Zersetzung des nativen Bitterstoffes ist also nicht die einzige Umsetzung, welche die Inhaltsstoffe der Zichorie beim Rösten erfahren. Vor allem ist vielmehr an diesen der reduzierende Zucker und das Inulin der Wurzel be-

teiligt, indem diese teils durch Caramelisierung, teils durch Abbau sich in Produkte umsetzen, die als Duftstoffe und bittere Geschmacksstoffe später in den Zichorienaufguß übergehen. Wenn sich beim Rösten das Inulin durchschnittlich von einem Anfangsgehalt von 50 bis 60 % auf 5 bis 20 % vermindert, während die reduzierenden Substanzen dabei von 5 auf 20 % zunehmen, so ist diese Veränderung auf die Entstehung von Röstprodukten zu beziehen.

Es ist aber ganz falsch, wenn viele Autoren die Abnahme des Inulins einfach auf die Bildung von reduzierendem Zucker zurückführen, denn die Röststoffe, eine Reihe von gar nicht definierten Substanzen, die unter dem Sammelnamen „Assamar“ zusammengefaßt werden und die stark bitter schmecken, reduzieren ebenfalls in der Kälte alkalische Kupferlösung. Es läßt sich jedoch eine Trennung des Zuckers von den Röstbitterstoffen in der Weise durchführen, daß der im Vakuum erzeugte Abdampfrückstand eines Zichorienabsudes aus einer bestimmten Menge gerösteter Zichorie oftmals mit frisch destilliertem Essigäther in der Wärme angerührt wurde, wodurch die im Essigäther leicht löslichen Röstbittersubstanzen größtenteils ausgezogen wurden, ihre Menge beträgt durchschnittlich 1,5 % der angewendeten Zichorienmengen, wodurch also die gleichsinnigen Befunde Schmiedebergs bestätigt werden.

Auf die quantitative Bestimmung des „Assamar“ wurde um so weniger Gewicht gelegt, als der genannte Autor völlige physiologische Indifferenz nachgewiesen hat. Aus den vom Röstbitter der Hauptsache nach befreiten Trockenrückstand wurde nach dessen Erschöpfung mit Wasser durch essigsaures Phenylhydrazin der reduzierende Zucker als Osazon abgeschieden. Die Wägung der gebildeten Osazone und Rückrechnung auf Zucker ergab eine rohe Mengenbestimmung des vorhandenen Zuckers, der aber durch eine Zuckerbestimmung der aus dem Osazon abgespaltenen Zuckerarten kontrolliert wurde. Es ergab sich eine durchnittliche Menge von 4 bis 5 % reduzierenden Zuckers in der gerösteten Zichorie, also nicht nur keine Zunahme, sondern eher eine Abnahme gegenüber dem Zuckergehalt des lufttrockenen Produktes, die auf eine Caramelisierung des Zuckers, der sich als Lävulose erwies, zurückzuführen ist.

Somit wäre die Abnahme des Inulins nicht auf eine Ver-

mehrung der Monosaccharide, sondern auf Entstehung von dextrinartigen Produkten des Inulins zurückzuführen. Das ist von einiger Wichtigkeit für anderweitige Verwendungsmöglichkeit der Zichorie.

Cichoreol.

Außer den Röstbitterstoffen entstehen beim Rösten der Zichorienwurzeln empyreumatische Öle, welche auf dieselbe Weise aus Kohlenhydrat- und Eiweißkomplexen der Wurzel hervorgegangen sind, wie das sogenannte „Caffeol" beim Rösten der Kaffeebohnen. Wegen seiner vom Caffeol wesentlich abweichenden chemischen Beschaffenheit möchte ich für das empyreumatische Öl der Zichorie einen besonderen Namen, etwa „Cichoreol", reserviert wissen.

Das Verfahren das zu seiner Darstellung diente, war dasselbe, welches ich mit Erfolg zur Gewinnung von Caffeol angewendet hatte[1]). Die Menge des Cichoreols ist ziemlich größer als die des Caffeols, denn während das letztere aus Kaffeepulver in einer Quantität von etwa 0,05 $^0/_0$ gewonnen werden kann, beträgt die Menge des gewinnbaren Cichoreols zirka 0,08 $^0/_0$ bis 0,1 $^0/_0$; das beruht vielleicht auch auf den qualitativen Unterschieden der beiden Öle; denn während der Hauptbestandteil des Cichoreols, die Essigsäure, sehr leicht gewonnen und mit Äther ausgeschüttelt werden kann, ist das beim Hauptbestandteil des Caffeols, dem Furfuralkohol, nicht so leicht der Fall. Die aus dem Dampfapparate herauskommende wässerige Lösung des Cichoreols wurde im Extraktionsapparate nach Schacherl in kontinuierlichem Betriebe mit Äther extrahiert und die noch in der Flüssigkeit nach dem Ausschütteln verbliebene wässerige Lösung mit Kochsalz ausgesalzen; das in der Ätherlösung befindliche und aus ihr durch vorsichtiges Abdampfen des Äthers gewonnene Cichoreol ist ein leicht bräunlich gefärbtes, ziemlich dickes Öl von intensivem Geruch, der aber keineswegs an das charakteristische Aroma des Caffeols erinnert; die auffallende Ähnlichkeit von geröstetem Kaffee und gerösteter Zichorie im Geruche stammt von der feinen Verteilung der im Caffeol und Cichoreol gleicherweise vorhandenen Konstituenten, während diejenige Substanz, die das spezifische

---

[1]) V. Grafe, Untersuchungen über die Herkunft des Caffeols Sitzungsber. d. kaiserl. Akad. d. Wiss. 121, Wien 1912.

Kaffeearoma hervorruft und die ohnehin in sehr geringer Menge im Kaffee vorhanden ist, im Caffeol in relativ tausendfach vermehrter Qualität auftritt und den Geruch des Caffeols sehr wesentlich beeinflußt, während sie im Kaffee selbst hinter den anderen weniger charakteristisch, aber dafür um so stärker riechenden Bestandteile, die eben auch im Cichoreol vorhanden sind, zurücktritt. Der wesentlichste Unterschied zwischen Cichoreol und Caffeol sei gleich hervorgehoben: das Cichoreol ist stickstoffrei, während das Caffeol eine, wahrscheinlich den Pyridinbasen angehörige, stickstoffhaltige Substanz aufzuweisen hat. Das stark nach Essigsäure riechende, in Äther gelöste Öl wurde mit konzentrierter Sodalösung wiederholt geschüttelt und die Sodalösung, die nunmehr die saueren Anteile des Cichoreols aufgenommen hatte, im Scheidetrichter von der ätherischen Lösung getrennt. Zunächst wurde nun durch Zusetzen der berechneten Menge $^{n}/_{10}$-Schwefelsäure die Summe der organischen Säuren in Freiheit gesetzt und diese durch Äther ausgeschüttelt; nach Abdunsten des Äthers wurde mit n-KOH die Säurezahl bestimmt und gefunden, daß 10 g des Öles 115 cm n-KOH verbraucht hatten, was, auf Essigsäure gerechnet, 69 $^0/_0$ Säure entspricht. Die Darstellung der Silbersalze durch Schütteln mit Silberkarbonat zeigte, daß im Cichoreol 63,5 $^0/_0$ Essigsäure und 5,43 $^0/_0$ Valeriansäure (Methyl-Äthylessigsäure) enthalten sind. Nach Neutralisierung der Sodaausschüttelung mit Schwefelsäure und Entfernung der Säure durch Ausäthern zeigte die Lösung beim Erwärmen einen eigentümlichen Geruch, der für Akrolein charakteristisch ist; da die Substanz sehr stark ammoniakalische Silberlösung reduzierte und mit Piperidin-Nitroprussidnatrium eine blaue Färbung lieferte, wurde, um die Menge des Akroleins im Cichoreol annähernd genau zu bestimmen, ein colorimetrisches Verfahren ausgearbeitet, das durch Vergleich mit Stammlösungen von bestimmtem Gehalt die betreffende Akroleinquantität zu beurteilen gestattete. Seine Menge betrug approximativ 2,5 $^0/_0$. Die Ätherausschüttelung des Öles wurde wiederholt mit Sodalösung und schließlich mit Wasser gewaschen. Aus der nunmehr von Säuren vollkommen befreiten ätherischen Lösung wurde der Äther abdestilliert und das zurückgebliebene Öl der fraktionierten Destillation unterworfen. Die bei ca. 160 bis 165^0 übergehenden Tropfen der Flüssigkeit gaben mit Ani-

lin und Salzsäure die für Furfurol charakteristische Reaktion, Scharlachrotfärbung, während die bei ca. 171 bis 175° quantitativ übergehenden Anteile mit Acetaldehyd die von E. Erdmann beschriebene smaragdgrüne Färbung lieferte. Zur näheren Bestimmung dieses Anteiles, der sich durch die genannte Farbenreaktion als Furfuralkohol darstellte, wurde ein colorimetrisches Verfahren angewendet, dessen Beschreibung bereits an anderer Stelle[1]) erfolgt ist. Die betreffende Fraktion wurde auf 100 ccm verdünnt und von dieser Lösung mit der Tropfpipette in je 5 ccm konzentrierter Salzsäure angesäuerten Acetaldehyds so lange unter Umschütteln zufließen gelassen, bis eben die maximale Grünfärbung eingetreten war. Gleichzeitig wurden Proben zum Vergleich aufgestellt, in denen mittels einer bekannten Menge Furfuralkohols die Grünfärbung erzeugt worden war. Die in solchen Vergleichsversuchen verbrauchte Tropfenmenge zeigte, daß ca. 23 bis 25 % Furfuralkohol im Cichoreol enthalten sind, während die zu 100 fehlenden 2 bis 3 % von Furfurol gebildet werden; stickstoffhaltige, sich vom Pyridin ableitende Substanzen und Phenole traten nicht auf. Ein Vergleich der Zusammensetzung von Caffeol und Cichoreol, die erstere nach den Zahlen von E. Erdmann, zeigt den Unterschied der beiden empyreumatischen Öle:

Caffeol.

Ca. 38 % Essigsäure und Valeriansäure, Aceton,
ca. 50 % Furfuralkohol und Furfurol,
eine kleine unbestimmte Menge von anderen Furanderivaten, ferner Phenole von Kreosotgeruch,
ca. 8 bis 10 % einer stickstoffhaltigen Substanz mit den Reaktionen eines Pyridinderivates, die das spezifische Kaffeearoma bewirkt.

Cichoreol.

63,5 % Essigsäure, 5,43 % Valeriansäure,
ca. 2,5 % Akrolein,
ca. 2,3 % Furfurol,
ca. 23,25 % Furfuralkohol,
keine stickstoffhaltigen Substanzen.

[1]) Untersuchungen über die Herkunft des Caffeols, Sitzungsber. d. kaiserl. Akad. d. Wiss. 121, 1912.

Es gelingt nicht, durch Zusammenrösten von Bitterstoff und Inulin und Fett ein empyreumatisches Öl von dem für geröstete Zichorie charakteristischen Aroma herzustellen, aber dem entstehenden Produkt lassen sich allerdings wechselnde Mengen von Essigsäure, Valeriansäure und Akrolein durch Äther und Sodalösung entziehen. Bemerkenswert ist, daß in diesem Falle die Furanderivate kaum auftreten. Sie entstammen sicherlich zum größten Teile der Rohfaser und nur zum kleinen Teile dem Inulin, denn im Falle des künstlichen gerösteten Produktes tritt wohl etwas Furfurol, aber wenig Furfuralkohol auf. Während in der Kaffeebohne die Furanderivate hauptsächlich aus den Hemicelluloseanteilen der Rohfaser stammen, rühren sie hier von den Pentosanen her, denn es zeigte sich, daß die Pentosane, als Phloroglucid bestimmt, beim Rösten der Zichorie der lufttrockenen Wurzel gegenüber beträchtlich abgenommen haben, nämlich von ursprünglich 4 bis 6 % auf 1,2 bis 3,6 %. In dieser Beziehung befinde ich mich im Widerspruch mit Hueppes Angaben, der nach dem Rösten die Rohfaser bedeutend erhöht, die Pentosane unverändert fand. Allerdings hat Hueppe ganz anders gearbeitet als ich, er hat ferner die Cellulose für sich gewogen, auf deren Bestimmung ich gar keinen Wert gelegt habe. Die Ermittlung der Rohfaser ist ohnehin nach den verschiedenen Methoden so wenig zuverlässig, daß man froh sein muß, im großen Ganzen übereinstimmende Zahlen zu erhalten und nicht daran denken darf, hier auch noch zu spezialisieren. Hueppe sagt dann auch selbst (S. 24), daß seine „Zahlen“ für Rohfaser bzw. Lignin mit Vorsicht aufgenommen werden müssen. Ein Teil der Röstprodukte, namentlich das nur in verschwindenden Mengen vorhandene Akrolein und ein an und für sich sehr kleiner Teil der Säuren stammt nicht aus den natürlichen Bestandteilen der Zichorie, sondern aus den der Zichorie seitens mancher Händler ab und zu zugesetzten fetten Ölen. Es steht jedoch nach meinen Untersuchungen fest, daß für die Bildung des empyreumatischen Öls in erster Linie die Kohlenhydrate der Zichorienwurzel, und zwar die Rohfaser, die Pentosane und das Inulin, zum geringen Teil auch das in der Zichorie enthaltene natürliche bzw. das ab und zu zugesetzte fette Öl maßgebend sind.

Anatomisches.

Die Wurzel der wilden Zichorie ist stark verholzt, die Gefäßbündel sind in einem Zentralzylinder strahlenförmig angeordnet. Die Markstrahlen, deutlich ausgeprägt und verholzt, sind durch schwach verholztes Parenchym voneinander geschieden. Die Milchsaftgefäße besitzen ein enges Lumen, sind außerordentlich verzweigt und anastomosieren miteinander, sie sind von einer milchigen Emulsion erfüllt, die Inulin teils gelöst (kolloidal), teils in feiner Suspension führt; der in den Milchsaftröhren transportierte Bitterstoff reagiert weder mit Chloralhydrat, noch mit Ferrichlorid; erst nach der Spaltung des Glucosids durch Erhitzen mit Säuren lassen sich Farbenreaktionen erhalten, wie sie für ortho-substituierte Benzolderivate charakteristisch sind.

Die Vergrößerung des Volumens, welche die kultivierte, allmählich immer mehr veredelte Zichorienwurzel der wilden gegenüber aufzuweisen hat, bewirkt natürlich weitgehende Veränderungen der inneren Struktur und des gegenseitigen Verhältnisses der Gewebeelemente zueinander. Die strahlenförmige Anordnung der einzelnen Gefäßbündel wird weniger deutlich, und im Zusammenhange damit nehmen die Markstrahlen an Mächtigkeit zu. Das zeigt sich besonders gegen das Zentrum hin, wo die Gefäßbündel auseinander weichen und mehr oder weniger durch Parenchym getrennt erscheinen.

Die Gefäßbündel in der Mittelpartie der ganzen Wurzel sind noch genau strahlenförmig orientiert, während sie sich gegen die kambiale Region hin armleuchterförmig in zahlreiche Arme zerteilen.

Die mikrochemische Analyse der Milchsaftröhren bestätigt das Resultat der makrochemischen Befunde in bezug auf die Abwesenheit von Gerbstoff.

Die Markstrahlen sind also nicht mehr regelmäßig strahlenförmig, sondern eingebuchtet und mehr oder weniger gebogen; die Elemente, die sie zusammensetzen, sind im Längsschnitt oft schief geschnitten, weil sie selbst mehr oder weniger schief verlaufen. Das beobachtet man auch im Holzteil, wo man noch die Mehrzahl der Gefäßbündel von mechanischen Geweben begleitet sieht, die von einigen verholzten Elementen gebildet

sind. Die Milchgefäße sind äußerst zahlreich und mächtig entwickelt; in der Wurzelmitte ist auch an den älteren Wurzeln ein deutliches Mark erhalten, das große Intercellularen enthält. Die Milchsaftröhren sind über die ganze Wurzel mit Ausnahme des Markes verteilt (sie fehlen auch in den äußersten Randpartien nicht), und zwar begleiten sie die Gefäße; am Schnitte (Querschnitt) sieht man sie als zahlreiche ovale Öffnungen, am Längsschnitt, wie er dieser Abhandlung beigegeben ist, lange, schief verlaufende, gegenseitig anastomosierende Röhren. Zwischen den Gefäßbündelsträngen breitet sich das großmaschige Parenchym aus, in das bei Überfüllung der Milchsaftschläuche an Inulin sich dieses Kohlenhydrat massenhaft ausbreitet, und wo es bei Einlegen des Schnittes in starken Alkohol in Form zahlloser Sphärite und Schollen sichtbar gemacht werden kann.

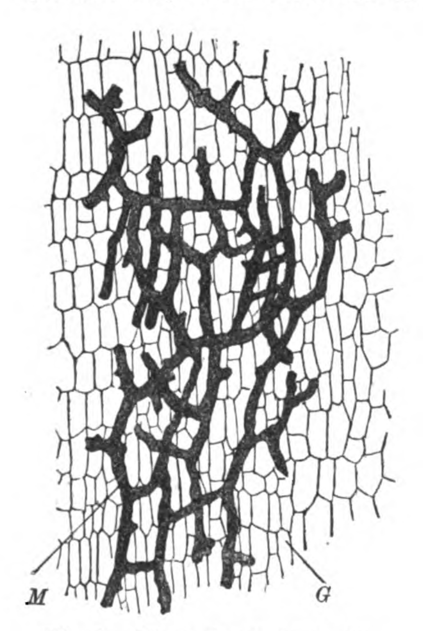


Fig. 1. Längsschnitt durch die frische Zichorienwurzel.
G = Grundparenchym.
M = Milchsaftschläuche.
(Vergr. 120.)

Mit Rücksicht auf die im Laufe dieser Untersuchung bewirkte Darstellung des Bitterstoffes und Röstöles aus Zichorie ist es von Interesse, einen Blick auf die mögliche physiologische Wirkung beider zu werfen. Bezüglich des letzteren ist zunächst hervorzuheben, daß dem empyreumatischen Öl aus Zichorie eine wesentlich andere Zusammensetzung zukommt als dem Caffeol, und daß vor allem dem Cichoreol der stickstoffhaltige pyridinartige Anteil gänzlich fehlt, und daß auch die Menge des toxischen Furfuralkohols stark herabgemindert ist. Wesentlich ist nur der relativ hohe Säuregehalt, auf dessen Bedeutung für eventuelle physiologische Wirkung bei übermäßiger Darreichung Harnack aufmerksam gemacht hat, eine Möglichkeit,

die natürlich beim Gemisch von Absuden aller gerösteten Stoffe gegeben ist und bei Absuden aus stark zuckerhaltigen Stoffen, namentlich Feige, den höchsten Grad erreicht.

Was den natürlichen Bitterstoff anlangt, so steht nunmehr, obwohl über seine chemische Konstitution noch keine volle Sicherheit gewonnen werden konnte, fest, daß er kein Alkaloid vorstellt, sondern ein Glucosid ist, dessen aromatische Komponente ein Protokatechuderivat und dessen Zuckeranteil Fructose ist, und daß beide dem bei der Assimilation entstehenden Inulin entstammen. Für die physiologische Wirkung kann aber der natürliche Bitterstoff überhaupt nur wenig in Betracht kommen, sondern höchstens seine Abbauprodukte, da er kaum unverändert den Röstprozeß überdauert. Wenn also die geröstete Wurzel einen stark bitteren Geschmack aufweist, so sind wesentlich die aus dem Inulin und der Glucose stammenden Assamarstoffe die Ursache, zu denen die Abbauprodukte des natürlichen Bitterstoffes höchstens eine persönliche Note hinzufügen. Über die Wirkungen des von Schmiedeberg Intybin genannten Bitterstoffes hat dieser Forscher Tierversuche angestellt, aus denen die vollkommene Unschädlichkeit desselben hervorgeht.

Über die physiologische Wirkung des Zichorienaufgusses hat in letzter Zeit J. Paechtner Untersuchungen angestellt und damit Boruttaus Behauptung widerlegt, daß die Zichorie die Verdauung, insbesondere der Eiweißkörper, hindere und daß sie einen nachteiligen Einfluß auf die Magensaftabsonderung ausübe; im Gegenteil wurde eine deutlich anregende Wirkung auf den Verdauungsapparat und den Blutkreislauf festgestellt.

Da in meinen Versuchen das für die Wirkung von Zichorienaufgüssen in erster Linie bestimmende Röstöl zum erstenmal chemisch genauer definiert worden war, interessierte mich die physiologische Wirkung desselben auf den Organismus, wenn es dem Versuchstier nicht ins Blutgefäßsystem eingeführt, sondern entsprechend der Genußform der Zichorie per os beigebracht wurde. Als Nichtmediziner ersuchte ich Herrn Dr. A. Hecht von der Kinderklinik des k. k. Allgemeinen Krankenhauses in Wien, diese Versuche durchzuführen, und es ist mir eine angenehme Pflicht, dem Genannten auch an dieser Stelle für die Mühe und Sorgfalt, mit der er diese zeitraubenden Versuche durchführte, meinen verbindlichsten Dank zu sagen.

Ich wählte die Menge des Cichoreols abnorm groß, und um auch die Kalisalze an der Wirkung auf die Herztätigkeit teilnehmen zu lassen, wurde die betreffende Cichoreolquantität, in normalem Zichorieninfus gelöst, verabreicht. Es wurden 0,8 g des Öles in 1000 ccm Zichorienauszug gelöst, der durch 1stündiges Kochen von 200 g gepulverter gerösteter Zichorie in derselben Quantität Wasser (1000 ccm) zustandegekommen war. Wenn man z. B. 6 g Zichorie mit 100 ccm Wasser kocht (statt normal 6 g auf 250 ccm Wasser), so ist der erhaltene Auszug schon $3^1/_2$ mal zu stark. Der gebräuchliche Auszug würde ferner 0,0048 g Cichoreol in 100 ccm enthalten, während der von mir verwendete im ganzen ca. 0,1 g enthielt, also in bezug auf Cichoreol 25mal so stark gewählt war als das normale Getränk.

Einem braunen Hasen von ca. 1500 g Gewicht wurden zunächst 50 ccm dieser Lösung und nach $2^1/_2$ Tagen wieder 80 ccm mit der Schlundsonde eingeflößt. Das vor der Injektion und nach derselben aufgenommene Elektrokardiogramm gestattet eine genaue Beurteilung der Wirkung. Nach Einflößung von 50 ccm blieb die Herzkurve, die Vorhof, Ventrikel und Nachschwankung umfaßt, absolut normal, und auch nach 80 ccm zeigte sich höchstens eine ganz unbedeutende Pulsverlangsamung, die übrigens wahrscheinlich auf Schwankungen der Motorbewegung zurückzuführen ist.

Sicherlich ist also selbst bei diesen exorbitant hohen Dosen, die beim 50mal schwereren Menschen noch mit 50 multipliziert werden könnten, ohne eine andere Wirkung hervorzubringen, der Zichorienextrakt nicht vom geringsten schädigenden Einfluß auf Magen und Herz. Die Versuchstiere befanden sich nach dem Versuch eben so wohl wie vorher. Mit diesem Beweis von der physiologischen Indifferenz auch des isolierten Cichoreols ist also die Beweiskette für die physiologische Harmlosigkeit des Zichorienextraktes geschlossen.

Zusammenfassung.

1. Die Zichorie ist die einzige unter den Inulinpflanzen, deren Wurzel und Blätter seit alter Zeit als Genußmittel verwendet wurden. Schon frühzeitig erkannte man ferner ihren

Wert als Nahrungsstoff, der durch ihren hohen Inulingehalt gegeben ist, und jenen als Genußmittel, den sie dem Bitterstoff verdankt. Damit sind jedoch die Bestandteile der Zichorie als Genußmittel nicht erschöpft, sondern beim Rösten wird der natürliche Bitterstoff zum Teil zerstört, so daß der bittere Geschmack der gerösteten Zichorie hauptsächlich durch die Abbauprodukte des Inulins und das Assamar hervorgerufen wird, auch der natürliche Bitterstoff hat sich als Abbau- und Umwandlungsprodukt des Inulins erwiesen.

2. Bei der Untersuchung der aus verschiedenen Bodenarten stammenden Wurzeln stellt es sich zunächst heraus, daß der Inulingehalt sehr vom Wassergehalt des Bodens abhängt, indem extremer Wassergehalt den Inulingehalt vermindert, Trockenheit bis zu einem gewissen Grade befördert, entsprechend der allgemeinen physiologischen Erfahrung, daß Trockenheit die Kondensations-, Feuchtigkeit die Hydrolysevorgänge begünstigt. Während der Aschengehalt der Wurzel durchschnittlich sich zwischen 5 und 6 % hält, scheint die „Rohfaser“ auf Lehm- und Sandboden ab-, auf Humus- oder Moorboden zuzunehmen, was deshalb von einiger praktischer Wichtigkeit ist, weil aus der Rohfaser gewisse physiologisch wirksame Röstprodukte hervorgehen. Auf Lehm- und Sandboden ist ferner eine Zunahme an Inulin und durchschnittlich eine Zunahme an Bitterstoff zu verzeichnen, während diese Verhältnisse in Humus- und Moorboden gerade umgekehrt sind. Es ist natürlich durchaus möglich, daß diese Beeinflussung nicht durch die Bodenart direkt, sondern durch die Beeinflussung der allgemeinen Vegetationsverhältnisse des Klimas und der Witterung erfolgt.

3. Die Versuche, den natürlichen Bitterstoff darzustellen, führten allerdings zu keinem absolut analysenreinen Produkt, was vor allem daran liegt, daß es sich hier um eine äußerst zersetzliche Substanz handelt, aber sie lieferten das Ergebnis, daß es sich keinesfalls, wie man früher wohl angenommen hatte, um ein Alkaloid oder einen Gerbstoff handelt, sondern um ein Glucosid, dessen Zuckerkomponente Lävulose, dessen Nichtzuckerkomponente ein Protokatechuderivat, wahrscheinlich Protokatechualdehyd, ist und daß beide aus dem Inulin stammen, erstere als Hydrolyseprodukt desselben, letzterer aus dessen dextrinartigen Abbauprodukten, deren Auf-

treten mikroskopisch schon in den Blättern zu konstatieren ist. Die von manchen Autoren konstatierte Zunahme von reduzierendem Zucker beim Rösten auf Kosten von verschwindendem Inulin ist kaum richtig, sondern es handelt sich hier ebenfalls um dextrinartige und auch um dem Assamar nahestehende Abbauprodukte des Inulins.

4. Das empyreumatische Öl, das beim Rösten der Zichorie entsteht, ist dem beim Kaffeerösten entstehenden Caffeol analog, aber wesentlich anders zusammengesetzt, weshalb dafür der Name „Cichoreol" vorgeschlagen wird. Sein Hauptbestandteil ist Essigsäure, während ein kleiner Anteil durch Valeriansäure und Akrolein, ca. 23 bis 25 % durch Furfuralkohol gebildet werden, dem toxischen Anteile des Caffeols, der dort über 50 % ausmacht und im wesentlichen aus der Rohfaser hervorgeht. Das Cichoreol macht durchschnittlich 0,08 bis 0,1 % aus.

5. Bei der Untersuchung der aus demselben Boden stammenden Keimpflanzen einerseits, der Wurzeln andererseits ergab sich ein gewisser Parallelismus in der Aufnahme von Mineralsubstanzen und der Bildung organischer Bestandteile, indem auch hier in lockerem wasserreichen Medium die Entstehung von Inulin und Bitterstoff vermindert, jene der Rohfaser erhöht wird, während in trockenem Boden sich die Verhältnisse umkehren. In lockerem feuchten Boden ist ferner die Aufnahme von Erdalkalien stark herabgemindert, während der Betrag der Alkalien in der Asche ziemlich konstant bleibt. Es ist möglich, daß Kalk und Magnesia bei den Kondensationsvorgängen in der Pflanze eine Rolle spielen.

Über die Einwirkung von Serum und von Aminosäuren auf Ureasen.

Von

Martin Jacoby und N. Umeda.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 31. Juli 1914.)

Margarete Falk[1]) hat vor einiger Zeit im hiesigen Laboratorium gefunden, daß die Urease aus der Sojabohne durch Zusatz von Kaninchenserum in ihrer Wirkung verstärkt wird, während dasselbe Serum auf die Urease des Akaziensamens ohne Einfluß ist. Falk stellte weiterhin fest, daß man das verdünnte Serum 2 Minuten kochen könne, ohne die Auxowirkung auf Soja-Urease zu schädigen und daß die Auxourease Schleicher-Schüllsche Dialysierhülsen nicht passiert. Unsere Versuche bilden eine Fortsetzung der Falkschen Arbeit und bezweckten zunächst eine Isolierung der Auxosubstanz des Serums.

Methodik.

Die Methodik schloß sich ganz dem Vorgehen von Armstrong[2]) und Falk an, so daß wir uns hier kurz fassen können. Die Wirkung der Urease wurde durch die Bestimmung des aus dem Harnstoff abgespaltenen Ammoniaks geprüft. Die einzelnen Gemische wurden in einen Erlenmeyerschen Kolben gebracht, der mit einem doppelt durchbohrten Gummistopfen ausgerüstet war. In dem Stopfen waren mit Gummischläuchen montierte Glasröhrchen eingefügt, der Verschluß wurde durch Zuklemmen der Schläuche mittelst Metallklammern hergestellt. Nach Beendigung der Digestion können diese Kolben in den Dampfdestillationsapparat zur Ammoniakbestimmung eingefügt werden.

Als Soja-Urease benutzte ich ein in Wasser lösliches Trockenpräparat, über dessen Darstellung noch berichtet werden wird. Die Robinia-Urease präparierten wir uns nach den Falkschen Vorschriften.

---

[1]) Falk, diese Zeitschr. 59, Heft 3 und 4.

[2]) Armstrong-Horton, Proc. Roy. Soc. 85, Nr. 577, Mai 1912.

Das Sojapräparat löste sich leicht opalisierend in Wasser, im trockenen Zustand ist es gut haltbar, wenn auch im Laufe von Monaten seine Wirksamkeit nachläßt.

Beim Versuch wurde die frisch bereitete Sojalösung oder der frisch bereitete Robiniaextrakt zusammen mit Serum oder den entsprechenden Serumfraktionen, 20 ccm 2%ige Harnstofflösung, je 1 ccm Toluol und Olivenöl, das zum Vermeiden des Schäumens diente, in die Kolben gebracht, schnell geschlossen und die Kolben 19 bis 24 Stunden im Brutschrank gelassen.

Das abgespaltene Ammoniak wurde nach der Vorschrift von Armstrong mit Wasserdampf in die mit $^n/_1$-H_2SO_4 versehene Vorlage abdestilliert. Aus den Destillaten wurde durch Aufkochen die Kohlensäure entfernt, und nach dem Abkühlen die überschüssige Säure mit $^n/_{10}$-NaOH zurücktitriert.

In den Tabellen geben wir die erhaltene Ammoniakmenge direkt in Kubikzentimeter $^1/_1$-Normallösung.

Zur Kontrolle wurde stets physiologische Kochsalzlösung (0,85%) statt des Serums zugefügt.

Einwirkung von Kaninchenserum.

Zunächst geben wir einige Versuche wieder, die in Bestätigung von Falk zeigen, daß Kaninchenserum die Soja-Urease in ihrer Wirkung erheblich verstärkt.

Tabelle I.

Überall 10 ccm 0,3% Soja, 20 ccm 2% $\overset{+}{U}$.

Hauptversuch			Kontrolle		
Kaninchenserum ccm	Brutschrank Std.	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3	NaCl (0,85%) ccm	Brutschrank Std.	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
2,0	24	8,28	2,0	24	3,25
2,0	24	8,27	2,0	24	3,10
2,0	22	7,61	2,0	22	3,04

Einfluß der Kochsalz- und der Wasserkonzentration auf die Soja-Urease.

In Bestätigung von Armstrong wurde gefunden, daß durch steigenden Kochsalzzusatz die Wirkung der Soja-Urease gehemmt wird.

Zum Versuch wurde 0,85%ige Kochsalzlösung in verschiedenen Volumen unter den sonst eingehaltenen Bedingungen benutzt. Als Kontrolle wurde dest. Wasser statt Kochsalzlösung verwendet, die gesamte Flüssigkeitsmenge erhielt bei

jedem Versuch durch Zusatz von dest. Wasser das gleiche Volumen.

Wie Tabelle II A zeigt, nimmt die Hemmung mit der Kochsalzmenge zu.

Um den Einfluß der Flüssigkeitsmenge auf die Sojawirkung zu prüfen, haben wir eine Versuchsreihe mit verschiedenen Mengen dest. Wassers angesetzt. Tabelle II B zeigt, daß je größer die gesamte Flüssigkeitsmenge ist, die Sojawirkung desto schwächer wird.

Tabelle II A.

Überall 10 ccm 0,3% Soja, 20 ccm 2% $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 19 Std.

NaCl (0,85%) ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
0	10,0	1,48
0	10,0	1,35
2,0	8,0	1,46
2,0	8,0	1,36
8,0	2,0	0,86
8,0	2,0	0,96
10,0	0	0,65
10,0	0	0,74

Tabelle II B.

Überall 10 ccm 0,3% Soja, 20 ccm 2% $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 19 Std.

H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
2,0	0,85
2,0	0,98
10,0	0,48
10,0	0,45
20,0	0,44
20,0	0,42

Ist die Auxosubstanz kochbeständig?

Nach Falk ist die Auxosubstanz gegen 2 Minuten langes Kochen beständig. Zur Nachprüfung machten wir folgenden Versuch. 2 ccm Kaninchenserum wurden mit physiologischer Kochsalzlösung bis auf 20 ccm verdünnt und in einem Erlenmeyerschen Kolben auf dem Drahtnetz mit kleiner Flamme vorsichtig erwärmt, dann 2 und 5 Minuten lang unter Innehaltung genauer Zeiten gekocht.

Noch 2 ccm Serum wurden mit physiologischer Kochsalzlösung auf 20 ccm aufgefüllt.

Die gekochten und die nicht gekochten verdünnten Sera wurden unter den sonst eingehaltenen Bedingungen zum Versuch verwendet.

Zur Kontrolle wurde 20 ccm physiologische Kochsalzlösung statt des verdünnten Serums angewendet. Das Resultat stimmt mit den Angaben von Falk überein.

Die Auxosubstanz ist demnach, wie Tabelle III zeigt, im

verdünnten Serum gegen 2 und 5 Minuten langes Kochen beständig.

Tabelle III.

Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm 2 % $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 19 Std.

20 ccm mit 0,85 % NaCl-Lösung auf 10fach verdünntes Serum			20 ccm 0,85 % NaCl-Lösung
Resultat des Hauptversuches in ccm $^n/_1$-NH_3			Resultat der Kontrolle in ccm $^n/_1$-NH_3
ungekocht	2 Min. gekocht	5 Min. gekocht	
6,40	6,19	6,12	0,08
6,63	6,18	6,16	0,12

Ist die Auxosubstanz nicht dialysierbar?

Falk hat ferner beobachtet, daß die Auxosubstanz nicht dialysierbar ist. Dies haben wir auch nachgeprüft. Dazu stand uns ein aus Hammelserum durch Trocknung im Faustschen Apparat gewonnenes Pulver zur Verfügung, das, wie frisches Kaninchenserum, eine vorzügliche Wirkung hatte, und außerdem blieb der wirksame Bestandteil des Pulvers während des Aufbewahrens ganz unverändert. Mit diesem Serumpulver wurde vor der Benutzung durch Vermengung mit dest. Wasser eine 10 %ige Lösung (etwa der Serumkonzentration entsprechend) hergestellt. Das nachher erwähnte Hammelserum stellt immer eine solche 10 %ige Lösung des Pulvers dar.

10 ccm dieses Hammelserums wurden in einer Fischblase, während Falk mit Papierdialysatoren gearbeitet hatte, mit Toluolzusatz gegen dest. Wasser 23 Stunden lang bei Zimmertemperatur dialysiert. Während der Dialysierung wurde das äußere Wasser 3 mal gewechselt, bis die Chlorprobe ganz negativ ausfiel.

Weitere 10 ccm desselben Serums wurden mit Toluolzusatz ohne Dialyse bei Zimmertemperatur belassen.

Das Volumen des dialysierten Serums betrug 25 ccm.

10 ccm des nicht dialysierten Serums wurde mit dest. Wasser auf 25 ccm verdünnt.

Je 12,5 ccm dialysiertes und nicht dialysiertes Serum (entsprechend je ca. 5 ccm Hammelserum) wurden unter den sonst eingehaltenen Bedingungen zum Versuch angesetzt. Zur Kontrolle wurden 12,5 ccm dest. Wasser statt des Serums zum Versuch angewendet.

Aus Tabelle IV ergibt sich, daß die Auxosubstanz im Hammelserum, wie auch Falk angibt, nicht dialysierbar ist.

Tabelle IV.

Überall 10 ccm 0,3% Soja, 20 ccm 2% $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 22 Std.

12,5 ccm dialysierte Flüssigkeit	12,5 ccm nicht dialysierte Flüssigkeit	12,5 ccm H_2O
Resultat des Hauptversuches in ccm $^n/_1$-NH_3	Resultat des Hauptversuches in ccm $^n/_1$-NH_3	Resultat der Kontrolle in ccm $^n/_1$-NH_3
8,17	8,21	2,97
8,15	8,13	2,88

Enthält das Serum Urease?

Nach den Angaben von Falk enthält das Serum keine Urease, diese Angabe haben wir mit einer Versuchsreihe nachgeprüft, Hammelserum mit Harnstoff ohne Soja mit 19stündigem Brutschrankaufenthalt. Die gesamte Flüssigkeitsmenge jedes Versuches wurde durch Zusatz physiologischer Kochsalzlösung ausgeglichen. Die Ergebnisse in Tabelle V zeigen, daß unsere Angaben mit den Falkschen übereinstimmen.

Tabelle V.

Überall 20 ccm 2% $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 19 Std.

Hammelserum ccm	NaCl (0,85%) ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
2,0	8,0	0,1
2,0	8,0	0,09
10,0	0	0,16
10,0	0	0,08

Ist der Harnstoffgehalt des Serums so gering, daß man ihn beim Versuch mit der Soja-Urease ganz vernachlässigen kann?

Donald D. van Slyke und Glerm E. Cullen[1]) schreiben, daß 1 ccm frisches Menschenblut so wenig Harnstoff enthält, daß er ganz vernachlässigt werden kann. Auch das haben wir selbst geprüft, indem wir Serum mit Soja ohne Harnstoff ansetzten. Dabei wurde die gesamte Flüssigkeitsmenge jedes Versuches durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung ausgeglichen. Aus den Ergebnissen in der Tabelle VI ersieht

---

[1]) Donald D. van Slyke and Glerm E. Cullen, Journ. Amer. Med. Assoc., 16. Mai 1914.

man, daß so kleine Mengen von Ammoniak entwickelt werden, daß die Fehlergrenze nicht überschritten wird.

Tabelle VI.
Überall 10 ccm 0,3% Soja.
Brutschrankaufenthalt 19 Std.

Hammelserum ccm	NaCl (0,85%) ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
2,0	8,0	0,03
2,0	8,0	0,025
10,0	0	0,11
10,0	0	0,1

Isolierung der Auxosubstanz.

1. Versuche mit alkoholischem Extrakt des Serums.

0,7 g Hammelserumpulver wurden mit 7 ccm absolutem Alkohol behandelt und nach tüchtigem Umrühren abfiltriert.

Je 2 ccm dieses alkoholischen Extraktes wurden mit dest. Wasser auf 10 ccm aufgefüllt.

Zur Kontrolle werden 2 ccm absoluter Alkohol mit dest. Wasser auf 10 ccm verdünnt. Mit je 10 ccm beider Lösungen wurde ein Versuch ausgeführt. Aus der Tabelle VII kann man ersehen, daß die Auxosubstanz aus Hammelserum mit Alkohol nicht extrahierbar ist, da die Unterschiede zwischen dem Hauptversuch und der Kontrolle nur ganz minimal sind.

Tabelle VII.
Überall 10 ccm 0,3% Soja, 20 ccm 2% $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 20 Std.

Hauptversuch		Kontrolle	
mit H_2O 5fach verdünntem Alkoholextrakt ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3	mit H_2O 5fach verdünntem absoluten Alkohol ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
10	1,19	10	0,85
10	1,20	10	1,05

2. Versuch mit den in Alkohol unlöslichen Bestandteilen.

Der alkoholunlösliche Rückstand obigen Versuches wurde mit dest. Wasser auf 7 ccm verdünnt.

Je 2 ccm dieser Aufschwemmung wurden unter den sonst eingehaltenen Bedingungen zum Versuch angesetzt. Aus der Tabelle VIII geht hervor, daß die Auxosubstanz in diesem alkoholunlöslichen Rückstand vorhanden ist.

Tabelle VIII.

Überall 10 ccm 0,3% Soja, 20 ccm 2% $\overset{+}{U}$.

Brutschrankaufenthalt 20,5 Std.

Hauptversuch		Kontrolle	
10% Aufschwemmung ccm	Resultat in ccm n/1-NH_3	NaCl (0,85%) ccm	Resultat in ccm n/1-NH_3
2,0	7,22	2,0	1,02
2,0	7,23	2,0	1,18

3. Versuch mit der wässerigen Lösung des Alkoholkoagulums.

0,7 g Hammelserumpulver wurden, wie oben, mit 7 ccm absolutem Alkohol behandelt. Der alkoholunlösliche Rückstand wurde mit dest. Wasser auf 7 ccm aufgeschwemmt, dann filtriert, je 2 ccm dieses Filtrats wurden mit Soja zum Versuch angesetzt. Aus der Tabelle IX ergibt sich, daß die Auxosubstanz sich in dem Filtrat befindet.

Tabelle IX.

Überall 10 ccm 0,3% Soja, 20 ccm 2% $\overset{+}{U}$.

Brutschrankaufenthalft 20 Std.

Hauptversuch		Kontrolle	
10% Wasserextrakt ccm	Resultat in ccm n/1-NH_3	NaCl (0,85%) ccm	Resultat in ccm n/1-NH_3
2,0	6,16	2,0	0,94
2,0	6,38	2,0	1,01

4. Versuch mit dem Filtrat der koagulablen Proteinstoffe.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Auxosubstanz im Blutserum gegen 5 Minuten langes Kochen widerstandsfähig ist. Im Anschluß hieran wurde folgende Operation vorgenommen.

0,8 g Hammelserumpulver wurden in 40 ccm dest. Wasser aufgelöst (ca. 5fach verdünntes Hammelserum), dann in einem Erlenmeyerschen Kolben auf dem Drahtnetz bis zum Sieden gekocht, sodann 0,2 ccm 10%ige Essigsäure zugefügt. Das Eiweißkoagulum wurde durch Filtration entfernt, das Filtrat ist eine schwach sauer reagierende, fast klare, etwas opalescierende Flüssigkeit und zeigte eine Spur Biuretreaktion.

Je 10 ccm dieses Filtrats (entspricht ca. 2 ccm Serum) wurden unter den sonst eingehaltenen Bedingungen zum Versuch angewendet.

Zur Kontrolle wurden 10 ccm der 5fach verdünnten physiologischen Kochsalzlösung benutzt, die mit Essigsäure fast ebenso wie beim Hauptversuch angesäuert wurden. Tabelle XA zeigt, daß das Filtrat des Eiweißkoagulums die Auxosubstanz noch enthält.

Essigsäure hemmt Soja-Urease, wie unten noch gezeigt wird; daher dürften die wirklichen Werte noch größer sein, als die auf der Tabelle angegebenen.

Die zur Kontrolle angewendete Kochsalzlösung hatte einen größeren Essigsäuregehalt als diejenige des Hauptversuches, weil beim Hauptversuch ein Teil der Essigsäure durch das Eiweißkoagulum gebunden wurde und das Filtrat daher einen verringerten Essigsäuregehalt aufwies.

Die Werte der Kontrolle sind daher relativ etwas mehr verringert worden als diejenigen des Hauptversuches.

Um Irrtümer auszuschließen, wurde folgender Versuch ausgeführt. Er war fast gleich dem vorigen, nur mit der Ausnahme, daß zur Kontrolle vierfach verdünnte Kochsalzlösung ohne Essigsäure angesetzt wurde. Die zum Hauptversuch angewendete Flüssigkeit war schwach sauer, die Kontrollflüssigkeit dagegen war ganz neutral. Da, wie Tabelle X B zeigt das Resultat des Hauptversuches, ungeachtet des Vorhandenseins von Essigsäure, deutlich größer ist als dasjenige der Kontrolle, ist um so beweisender sichergestellt, daß das Filtrat des Eiweißkoagulums die Auxosubstanz enthält.

Tabelle X A.

Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm 2 % $\overset{+}{\text{U}}$.
Brutschrankaufenthalt 19 Std.

Hauptversuch		Kontrolle	
Filtrat des Eiweißkoagulums ccm	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3	5 fach verdünnte 0,85 % NaCl (mit Essigsäure) ccm	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3
10	3,84	10	0,50
10	4,01	10	0,65

Tabelle X B.

Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm 2 % $\overset{+}{\text{U}}$.
Brutschrankaufenthalt 19 Std.

Hauptversuch		Kontrolle	
Filtrat des Eiweißkoagulums ccm	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3	5 fach verdünnte 0,85 % NaCl (ohne Essigsäure) ccm	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3
15	1,45	15	0,55
15	1,49	15	0,54

Der Einfluß der Essigsäure auf Soja-Urease.

Zu 100 ccm dest. Wasser wurden 0,5 ccm 10%ige Essigsäure zugesetzt (genau dieselbe Konzentration wie die obige Kontrolle). Von dieser sauren Lösung wurden 5, 10 und 20 ccm unter den sonst eingehaltenen Bedingungen zu Soja hinzugefügt. Bei jedem Versuch wurde durch Zusatz von dest. Wasser eine einheitliche Flüssigkeitsmenge hergestellt. Aus der Tabelle XI ergibt sich, daß mit der Menge der Essigsäure die Hemmung zunimmt.

Tabelle XI.

Überall 10 ccm 0,3% Soja, 20 ccm 2% $\overset{+}{U}$.

Brutschrankaufenthaft 23 Std.

Hauptversuch			Kontrolle	
H_2O mit Essigsäure ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
5	15	0,94	20	0,98
10	10	0,74	—	—
20	0	0,15	—	—

5. Versuch mit den im Filtrat des Eiweißkoagulums enthaltenen, durch Alkohol ausfällbaren Bestandteilen.

Ein gut wirkendes, fast klares, leicht opalisierendes Filtrat wurde mit absolutem Alkohol behandelt, bis ein weißer flockiger Niederschlag entstand. Dieser Niederschlag wurde abfiltriert und der Rückstand mit einer kleinen Menge dest. Wassers aufgenommen. Mit dieser Lösung wurde unter den sonst eingehaltenen Bedingungen eine Versuchsreihe angesetzt. Die Versuchsergebnisse ließen uns zu der Annahme kommen, daß die Auxosubstanz den durch Alkohol gerinnbaren Bestandteilen nicht zuzuschreiben ist.

6. Ist die Auxosubstanz mit Pepsin-HCl nicht zerstörbar?

2,5 g Hammelserumpulver wurden in 125 ccm dest. Wassers aufgelöst, nach der Ansäuerung mit 0,6 ccm 10%iger Essigsäure aufgekocht, dann abfiltriert.

Zu 80 ccm dieses wirksamen Filtrats des Eiweißkoagulums wurden 0,1 g Pepsin und 15 ccm $^n/_{10}$-HCl zugesetzt.

Nach 2stündiger Digerierung im Brutschrank wurde die Lösung mit $^n/_{10}$-KOH bis zur sehr schwach sauren Reaktion neutralisiert.

Diese schwach saure Lösung wurde 1 Minute gekocht, dann abfiltriert. Je 41 ccm dieses Filtrats (entsprechen ca. 6 ccm Serum) wurden mit Soja zum Versuch angesetzt. Zur Kontrolle wurden 80 ccm 5fach

verdünnter physiologischer Kochsalzlösung mit Essigsäure genau in gleicher Konzentration wie beim Hauptversuch angesäuert und 15 ccm $^{n}/_{10}$-HCl zugesetzt, dann mit $^{n}/_{10}$-KOH neutralisiert, bis eine sehr schwachsaure Reaktion zurückbleibt. Wie die Tabelle XII zeigt, ist die Auxosubstanz zweistündiger Pepsin-HCl-Verdauung gegenüber widerstandsfähig.

Tabelle XII.

Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm 2 % $\overset{+}{U}$.

Hauptversuch			Kontrolle		
Mit Pepsin + HCl digerierte Flüssigkeit ccm	Brutschrank Std.	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3	5 fach verdünnte 0,85 % NaCl ccm	Brutschrank Std.	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3
41	19	6,63	41	13	0,52
41	20	6,67	41	20	0,23
41	20	6,70	41	20	0,19

Untersuchungen mit Aminosäuren.

1. Versuch mit Glykokoll.

1 %ige und 5 %ige Glykokollösung (neutral reagierend) wurden in verschiedenen Mengen dem Versuchsgemisch (Soja-Harnstoff) statt des Serums zugefügt. Durch dest. Wasser wurde überall dieselbe Verdünnung hergestellt. Aus den Tabellen XIII A, XIII B ist ersichtlich, daß die Glykokollösung eine bedeutende Förderung auf die Soja-Urease ausübt.

Tabelle XIII A.

Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm 2 % $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 19 Std.

Hauptversuch			Kontrolle	
1 % Glykokoll ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3	H_2O ccm	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3
5	0	5,75	5	1,98
2	3	4,84	5	1,98
2	3	4,92	—	—

Tabelle XIII B.

Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm 2 % $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 22 Std.

Hauptversuch			Kontrolle	
5 % Glykokoll ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3	H_2O ccm	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3
5	0	8,40	5	0,50
3	2	7,63	—	—

2. Versuch mit d,l-Alanin.

5 ccm und 3 ccm 1%ige d,l-Alaninlösung (neutral reagierend) wurden unter denselben Bedingungen wie bei Glykokoll mit der Soja angesetzt. Bei jedem Versuch wurde durch Zusatz von dest. Wasser eine einheitliche Flüssigkeitsmenge hergestellt. Die Versuchsergebnisse in der Tabelle XIV beweisen, daß d,l-Alanin die Soja-Urease auch fördert.

Tabelle XIV.
Überall 10 ccm 0,3% Soja, 20 ccm 2% $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 24 Std.

Hauptversuch			Kontrolle	
5% d,l-Alanin ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
5	0	8,30	5	2,22
3	2	7,52	—	—

3. Versuch mit Tyrosin.

Da Tyrosin im Wasser sehr schwer löslich ist, wurde eine 0,2%ige Emulsion unter den sonst gleichen Bedingungen wie oben mit Soja und Harnstoff angesetzt. Die gesamte Flüssigkeitsmenge jedes Versuches wurde durch Hinzufügung dest. Wassers vereinheitlicht. Während des Aufenthaltes im Brutschrank wurde das Tyrosin durch das entstandene Ammoniak vollkommen aufgelöst.

Aus der Tabelle XV ersieht man, daß auch Tyrosin die Sojawirkung bedeutend beschleunigt.

Tabelle XV.
Überall 10 ccm 0,3% Soja, 20 ccm 2% $\overset{+}{U}$.

Hauptversuch				Kontrolle		
0,2% Tyrosin-emulsion ccm	H_2O ccm	Brut-schrank Std.	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3	H_2O ccm	Brut-schrank Std.	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
25	0	19	5,58	25	19	1,56
25	0	19	5,63	25	21	1,42
10	15	19	4,45	—	—	—
10	15	19	4,32	—	—	—
25	0	21	5,52	—	—	—
25	0	21	5,60	—	—	—
10	15	21	4,20	—	—	—

4. Versuch mit der d-Glutaminsäure.

5 und 2 ccm 1%iger d-Glutaminsäurelösung (stark sauer reagierend) wurden unter den gleichen Bedingungen wie oben mit Soja und Harnstoff angesetzt. Zur Kontrolle wurde dest. Wasser angewendet, und die gesamte Flüssigkeitsmenge wurde mit dest. Wasser ausgeglichen. Die Ergebnisse waren, wie die Tabelle XVI A zeigt, ziemlich interessant. Der Versuch mit 5 ccm d-Glutaminsäure wies kein Ammoniak auf, während derjenige mit 2 ccm derselben Lösung dagegen etwas Beschleunigung aufwies, verglichen mit der Kontrolle. Die Ergebnisse ließen uns vermuten, daß d-Glutaminsäure selbst einerseits eine Förderungsfähigkeit für Soja besitzt, aber die Säurereaktion hemmt andererseits ihre Wirkung. Dies wurde durch folgenden Versuch bestätigt. 0,2%ige d-Glutaminsäure (stark sauer reagierend) wurde mit $^n/_{10}$-KOH bis zur sehr schwachen sauren Reaktion neutralisiert, um zu verhüten, daß die Soja-Urease durch stark saure Reaktion von d-Glutaminsäure zerstört wird.

Zur Kontrolle wurde das gleiche Volumen dest. Wassers mit Soja angesetzt.

Tabelle XVI A.

Überall 10 ccm 0,3% Soja, 20 ccm 2% $\overset{+}{\text{U}}$.
Brutschrankaufenthalt 21 Std.

Hauptversuch			Kontrolle	
1% d-Glutaminsäure ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3	HO_2 ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
5	0	0	5	1,95
5	0	0	—	—
2	3	2,40	—	—
2	3	2,26	—	—

Tabelle XVI B.

Überall 10 ccm 0,3% Soja, 20 ccm 2% $\overset{+}{\text{U}}$.
Brutschrankaufenthalt 19 Std.

Hauptversuch			Kontrolle	
Glutaminsäure (bis schwach sauer neutralisiert) ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
27,5	0	3,45	27,5	0,37
11,0	16,5	2,20	—	—

Aus der Tabelle XVI B geht hervor, daß die bis zu schwacher saurer Reaktion neutralisierte d-Glutaminsäurelösung,

wie die anderen Aminosäuren, ebenfalls eine Beschleunigungsfähigkeit gegenüber der Soja-Urease besitzt.

5. Versuche mit d,l-Leucin.

5 ccm und 2 ccm 1 %ige Leucinlösung (neutral reagierend) wurden unter den sonst gleichen Bedingungen mit der Soja angesetzt. Die gesamte Flüssigkeitsmenge jedes Versuches wurde durch Zusatz von dest. Wasser ausgeglichen.

Zur Kontrolle wurde dest. Wasser verwandt. Aus der Tabelle XVII ist ersichtlich, daß die Leucinlösung auf die Soja-Urease auch eine Beschleunigungswirkung ausübt.

Tabelle XVII.
Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm 2 % $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 19 Std.

Hauptversuch			Kontrolle	
1 % d,l-Leucin ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
5	0	3,87	5	0,75
5	0	3,86	5	0,62
2	3	2,60	—	—
2	3	2,69	—	—
5	0	3,98	—	—
5	0	3,88	—	—
2	3	2,60	—	—
2	3	2,70	—	—

Daß bei obengenannten Aminosäuren durch Soja-Urease kein Ammoniak abgespaltet worden ist, wurde durch Kontrollversuche, Soja mit der entsprechenden Aminosäure ohne Harnstoff, jedesmal geprüft. In Tabelle XVIII haben wir diese Resultate zusammengestellt.

Tabelle XVIII.
Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm H_2O.

Name der Aminosäure	Menge der Aminosäure ccm	Brutschrank Std.	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
Glykokoll (5 %)	5,0	22	0
d,l-Alanin (5 %)	5,0	24	0,04
d,l-Leucin (1 %)	5,0	19	0,03
Tyrosin (0,2 %)	25,0	19	0
d,l-Glutaminsäure(0,2 %) (bis schwach sauer neutralis.)	27,5	19	0

Beziehung des optischen Verhaltens der Aminosäuren zu der Auxowirkung der Soja-Urease.

Daß die Aminosäuren auf Soja-Urease eine bedeutende Beschleunigung ausüben, wurde in den oben beschriebenen Versuchen schon bewiesen. Nun wurde untersucht, ob das optische Verhalten der Aminosäuren von Bedeutung ist. Dazu wurden 5 %ige d,l-Alanin- und d-Alaninlösung[1]), 0,2 %ige d,l-Glutaminsäure- und d-Glutaminsäurelösung benutzt. Glutaminsäurelösungen wurden nach der Neutralisation bis zur sehr schwach sauren Reaktion mit $^{n}/_{10}$-KOH durch Zusatz dest. Wassers auf 0,2 %ige Konzentration hergestellt.

Wie aus den Tabellen XIX A, XIX B hervorgeht, ist ein Einfluß der optischen Aktivität nicht nachweisbar.

Tabelle XIX A.
Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm 2 % $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 19 Std.

Hauptversuch				Kontrolle	
5 % d,l-Alanin ccm	5 % d-Alanin ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3	H_2O ccm	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3
5	0	0	6,97	5	1,00
3	0	2	6,62	5	1,10
0	5	0	6,89	—	—
0	3	2	6,45	—	—

Tabelle XIX B.
Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm 2 % $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 20 Std.

Hauptversuch			Kontrolle	
0,2 % d,l-Glutaminsäure (bis schwach sauer neutralisiert) ccm	0,2 % d-Glutaminsäure (bis schwach sauer neutralisiert) ccm	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3	H_2O ccm	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3
25	0	3,85	25	0,53
25	0	3,75	25	0,47
0	25	3,63	—	—
0	25	3,78	—	—

[1]) Das Präparat verdanken wir der Liebenswürdigkeit von Herrn Professor C. Neuberg.

Dialysierversuch mit dem Filtrat des Eiweißkoagulums von Serum.

Früher wurde die Richtigkeit der Angabe von Falk, daß die Auxosubstanz im Blutserum nicht dialysierbar ist, bereits bestätigt. Wegen der Beobachtungen mit der Serumfraktion und mit Aminosäuren war es von Interesse zu prüfen, wie die isolierten Serumfraktionen, die Auxowirkung entfalten, sich in bezug auf Dialyse verhalten.

2,4 g Hammelserumpulver wurde in 120 ccm dest. Wassers aufgelöst. Diese Lösung (ca. 5 fach verdünntes Hammelserum) wurde mit 0,6 ccm 10%iger Essigsäure in einem Erlenmeyerschen Kolben auf dem Drahtnetz bis zur Gerinnung des ganzen koagulablen Eiweisses gekocht. Durch Filtration des Eiweißkoagulums erhielt man eine fast klare, leicht opalisierende, schwach saure Flüssigkeit. Ein Teil dieser Flüssigkeit (40 ccm) wurde mit Toluolzusatz in einer Fischblase bei Zimmertemperatur gegen dest. Wasser 24 Stunden lang dialysiert. Während der Dialyse wurde das Außenwasser 5 mal gewechselt, bis die Chlorreaktion ganz negativ wurde. Die Menge der Innenflüssigkeit betrug 44 ccm, die Reaktion war ganz neutral. Ein anderer Teil der Flüssigkeit (40 ccm) wurde mit Toluolzusatz bei Zimmertemperatur belassen, dann wurde sie mit dest. Wasser auf 44 ccm aufgefüllt, je 22 ccm der dialysierten und der nicht dialysierten Flüssigkeiten wurden mit Soja unter den sonst eingehaltenen Bedingungen angesetzt. Zur Kontrolle wurden 22 ccm dest. Wassers angewendet. Die Versuchsergebnisse in der Tabelle XX A legen dar, daß die dialysierte Flüssigkeit, mit der Kontrolle verglichen, keine nachweisbare Beschleunigung ausübt, während die nicht dialysierte Flüssigkeit eine erhebliche Förderung bewirkt.

Auf Grund dieser Ergebnisse steht es fest, daß die Auxosubstanz, die im Blutserum selbst nicht dialysabel war, in dem Filtrat des Eiweißkoagulums dialysabel wurde. Als Ursache dieser Eigenschaftsänderung der Auxosubstanz kann man zwei Faktoren annehmen: 1. Entfernung des koagulablen Eiweißes, 2. einfache Verdünnung des Serums mit Wasser.

Um den zweiten Faktor auszuschließen, haben wir mit einem einfach verdünnten Serum einen Dialysierversuch gemacht.

Hier wurde ein mit Wasser 5 fach verdünntes Serum zur Dialyse benutzt, ohne Eiweißentfernung, unter sonst gleicher Behandlung wie oben. Die Versuche mit der dialysierten und nicht dialysierten Flüssigkeit zeigen sehr annähernd dieselben Werte. Aus der Tabelle XX B ist ersichtlich, daß die Auxosubstanz durch einfache Verdünnung ihre Eigenschaft nicht

ändert und noch undialysabel im Serum bleibt. Es wird also die Auxosubstanz erst nach der Eiweißentfernung dialysabel.

Tabelle XX A.

Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm 2 % $\overset{+}{\text{U}}$.

Brutschrankaufenthalt 21 Std.

Hauptversuch			Kontrolle	
Nach Eiweißentfernung dialysiarte Flüssigkeit ccm	Nach Eiweißentfernung nicht dialysierteFlüssigkeit ccm	Resultut in ccm $^n/_{10}$-NH_3	H_2C ccm	Resultat in ccm $^n/_{10}$-NH_3
22	0	0,62	22	0,41
0	22	2,62	22	0,38
0	22	2,83	—	—

Tabelle XX B.

Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm 2 % $\overset{+}{\text{U}}$.

Brutschrankaufenthalt 20 Std.

Hauptversuch			Kontrolle	
Ohne Eiweißentfernung dialysierte Flüssigkeit ccm	Ohne Eiweißentfernung nicht dialysierte Flüssigkeit ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
28	0	7,35	28	0,35
28	0	7,26	28	0,33
0	28	7,76	—	—
0	28	7,75	—	—

Untersuchung mit anderen Substanzen.

Um zu untersuchen, inwieweit die chemische Konstitution der Aminosäuren von Bedeutung für ihre Auxowirkung ist, haben wir noch einige andere Substanzen in gleicher Richtung geprüft.

1. Versuch mit Glutarsäure.

0,2 %ige Glutarsäure wurde nach der Neutralisation mit $^n/_{10}$-NaOH bis zu sehr schwach saurer Reaktion unter den sonst eingehaltenen Bedingungen zum Versuch angesetzt. Die Ergebnisse in der Tabelle XXI beweisen, daß die Glutarsäure keine Beschleunigung der Sojawirkung ausübt, während die Aminoverbindung derselben Säure (Glutaminsäure) eine deutliche Förderung hervorruft.

Tabelle XXI.

Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm 2 % $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 19 Std.

Hauptversuch			Kontrolle	
2 % Glutarsäure ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
25	0	0,44	25	0,30
25	0	0,41	25	0,30
10	15	0,35	—	—
10	15	0,31	—	—

2. Versuch mit Asparagin.

5 und 3 ccm 5 %iger Asparaginlösung wurden unter den sonst eingehaltenen Bedingungen mit Soja angesetzt. Die zur Verfügung stehende Lösung reagierte ziemlich stark sauer, doch übt das Asparagin, wie Tabelle XXII zeigt, trotzdem eine bedeutende Beschleunigung aus.

Zur Kontrolle wurde dest. Wasser angewendet. Die gesamte Flüssigkeitsmenge wurde durch Zusatz von dest. Wasser ausgeglichen.

Tabelle XXII.

Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm 2 % $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 19 Std.

Hauptversuch			Kontrolle	
5 % Asparagin ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
5	0	8,19	5	2,38
3	2	7,55	5	2,38

3. Versuch mit Witte-Pepton.

25 und 10 ccm 0,2 %iger Witte-Peptonlösung wurden unter den üblichen Bedingungen zum Versuch angesetzt. Als Kontrolle wurde dest. Wasser zugesetzt. Die gesamte Flüssigkeitsmenge jedes Versuchs wurde durch Zusatz von dest. Wasser ausgeglichen. Witte-Pepton übt, wie Tabelle XXIII zeigt, auch eine deutliche Beschleuniguug der Soja-Urease aus.

Tabelle XXIII.

Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm 2 % $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 19 Std.

Hauptversuch			Kontrolle	
0,2 % Witte-Pept. ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
25	0	7,03	25	0,36
25	0	7,10	25	0,35
10	15	6,86	—	—
10	15	6,75	—	—

4. Versuch mit Casein.

0,5 g Casein wurden mit wenig Wasser zusammengebracht und dann $^n/_{10}$-NaOH zugesetzt, bis sich das Casein auflöste. Nachher wurde die überschüssige Natronlauge mit $^n/_{10}$-HCl neutralisiert, bis eine sehr schwache alkalische Reaktion hinterblieb und mit dest. Wasser auf 50 ccm aufgefüllt. So wurde eine 1%ige Caseinlösung bereitet. Mit 15 und 5 ccm dieser Lösung wurde eine Versuchsreihe angesetzt. Die gesamte Flüssigkeitsmenge wurde durch Zusatz von dest. Wasser ausgeglichen. Die Ergebnisse beweisen, wie die Tabelle XXIV zeigt, daß Casein auch eine deutliche Förderung ausübt.

Tabelle XXIV.

Überall 10 ccm 0,3% Soja, 20 ccm 2% $\overset{+}{\text{U}}$.
Brutschrankaufenthalt 21 Std.

Hauptversuch			Kontrolle	
1% Casein ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
15	0	3,45	15	0,48
15	0	3,45	15	0,41
5	10	2,24	—	—
5	10	2,26	—	—

5. Versuch mit Glycyltryptophan.

Die für Fermentdiagnosen zur Verfügung stehende Glycyltryptophanlösung (nach Dr. Neubauer und Dr. B. Fischer — Kalle & Co., Aktiengesellschaft, Biebrich a. Rh.) wurde zum Versuch mit Soja benutzt. Die ziemlich stark alkalisch reagierende blaßgelbe Flüssigkeit wurde mit dest. Wasser auf das 10fache verdünnt. 2 und 1 ccm dieser schwach alkalischen Lösung standen für den Versuch zur Verfügung. Die gesamte Flüssigkeitsmenge jedes Versuches wurde durch Zusatz von dest. Wasser ausgeglichen; wie die Tabelle XXV zeigt, ist diese Lösung auch deutlich förderungsfähig.

Tabelle XXV.

Überall 10 ccm 0,3% Soja, 20 ccm 2% $\overset{+}{\text{U}}$.
Brutschrankaufenthalt 20 Std.

Hauptversuch			Kontrolle	
10fach verdünntes Glycyltryptophan ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3 ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
2,0	0	2,43	2,0	1,17
2,0	0	2,33	—	—
1,0	1,0	1,84	—	—
1,0	1,0	1,83	—	—

Aus diesen vier organischen Substanzen, Asparagin, Witte-Pepton, Casein und Glycyltryptophan, wurde durch Soja-Urease niemals Ammoniak abgespalten. Das wurde jedesmal durch Kontrollversuche geprüft; die Resultate sind aus Tabelle XXVI zu ersehen.

Tabelle XXVI.

Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm H_2O.

Name der Substanz	Menge der Substanz ccm	Brutschrank Std.	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
0,2 % Asparagin	5	19	0,02
0,2 % "	5	19	0,03
0,2 % Witte-Pepton . .	25	19	0
1,0 % Casein	15	20	0
1,0 % "	15	20	0,01
Glycyltryptophan . . .	2,0	20	0

Versuche mit Robinia-Urease.

1. Über den Einfluß des Hammelserums auf Robinia-Urease.

Falk hatte gefunden, daß, im Gegensatz zu der Soja-Urease, Robinia-Urease nicht durch Serum gefördert wird. Es mußte daher für uns von größtem Interesse sein, zu untersuchen, wie sich die Aminosäuren zu der Robinia-Urease verhalten. Zunächst haben wir die Falkschen Robinia-Serum-Versuche nachgeprüft und bestätigt. Wir haben 4 ccm, 2 ccm und 1 ccm des Robiniaextraktes (Herstellungsmethode ist oben angegeben) mit je 2 ccm Hammelserum unter den sonst eingehaltenen Bedingungen versetzt.

Zur Kontrolle benutzten wir physiologische Kochsalzlösung. Die gesamte Flüssigkeitsmenge wurde bei den einzelnen Versuchen mit dest. Wasser ausgeglichen. Bei der Robinia-Urease übt, wie Tabelle XXVII A zeigt, das Hammelserum keine Förderung aus. Dann wurde noch einmal mit 8 ccm, 6 ccm und 4 ccm Hammelserum und je 2 ccm Robinialösung unter den sonst eingehaltenen Bedingungen eine Versuchsreihe angestellt.

Nach der Tabelle XXVII B zu urteilen, scheint es, als ob 8 und 6 ccm Hammelserum für Robinia-Urease eine spurweise Förderung ausüben, während mit 4 ccm desselben keine Förderung nachweisbar ist.

Tabelle XXVII A.

Überall 20 ccm 2% $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 20 Std.

Hauptversuch				Kontrolle		
Robinia ccm	Hammelserum ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3	Robinia ccm	NaCl (0,85%) ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
4,0	2,0	0	4,83	4,0	0	4,90
2,0	2,0	2,0	2,85	2,0	2,0	2,90
1,0	2,0	3,0	1,60	1,0	3,0	1,55

Tabelle XXVII B.

Überall 2 ccm Robiniaextrakt, 20 ccm 2% $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 20 Std.

Hauptversuch			Kontrolle	
Hammelserum ccm	NaCl (0,85%) ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3	NaCl (0,85%) ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
8,0	0	2,49	8,0	2,30
6,0	2,0	2,45	8,0	2,27
4,0	4,0	2,30	—	—

2. Einfluß des Glykokolls auf Robinia-Urease.

4 ccm, 2 ccm und 1 ccm des Robiniaextraktes wurden mit je 5 ccm 5%iger Glykokollösung zum Versuch angesetzt. Die gesamte Flüssigkeitsmenge jeden Versuchs wurde mit dest. Wasser auf das gleiche Volumen gebracht. Aus der Taballe XXVIII geht hervor, daß Glykokoll auf Robinia nur eine ganz spärliche Förderung ausübt.

Tabelle XXVIII.

Überall 20 ccm 2% $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 20 Std.

Hauptversuch				Kontrolle		
Robinia ccm	5% Glykokoll ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3	Robinia ccm	H_2O ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
4	5	0	5,10	4	5	4,65
2	5	2	3,13	2	7	2,65
1	5	3	1,76	1	8	1,48
4	5	0	6,15	4	5	5,88
2	5	2	4,71	2	7	4,00
1	5	3	2,35	1	8	1,87

Die Aminosäure beschleunigt die Robinia-Urease, aber nur in geringem Maße.

Das Blutserum übt in kleinen Mengen keine Förderung auf Robinia-Urease aus, bei verhältnismäßig großen Mengen dagegen tritt eine spurweise Förderung ein.

Versuche mit verschiedenen Seren.

Nicht nur in Kaninchen- und Hammelseren, sondern auch in Kälber und Menschenseren haben wir die Auxosubstanz nachgewiesen. Das Menschenserum wurde im Faustschen Apparat getrocknet und pulverisiert.

Mit diesem Pulver wurde eine 10%ige Lösung (etwa Menschenserumkonzentration) bereitet. Diese Lösung ist blaßgelb, milchig getrübt und mäßig stark alkalisch reagierend.

Mit dieser Lösung wurde eine Versuchsreihe mit der Soja angesetzt, Hammelserum stand zum Vergleich zur Verfügung.

Aus der Tabelle XXIX geht hervor, daß die Menschensera eine fast gleiche Förderung wie das Hammelserum ausüben.

Die zur Verfügung stehenden Menschensera stammten von zwei Patienten: 1. Alcoholismus chronic. + Nephritis, 2. Uraemia + Nephritis haemorrhagica.

Tabelle XXIX.
Überall 10 ccm 0,3% Soja, 20 ccm 2% $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 22 Std.

Nr.	Hauptversuch			Kontrolle	
	Menschenserum ccm	Hammelserum ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3	NaCl (0,85%) ccm	Resultat in ccm $^n/_1$-NH_3
1	2,0	0	7,52	2,0	0,87
	2,0	0	7,54	2,0	0,91
2	2,0	0	8,15	2,0	1,54
	2,0	0	7,98	2,0	1,56
	0	2,0	7,40	—	—
	0	2,0	7,30	—	—

Wird die Auxowirkung des Kaninchenserums durch subcutane Einspritzung von Glykokoll gesteigert?

Wir haben einem Kaninchen (2480 g) am Morgen 10 ccm Blut aus der Ohrvene entnommen. Nach einigen Stunden wurden 30 ccm 10%ige Glykokollösung, auf 3 Stellen verteilt, subcutan eingespritzt. 2 Stunden

nach der Einspritzung wurden nochmals 10 ccm Blut aus der Ohrvene entnommen. Mit je 2 ccm dieser Seren, vor und nach der Einspritzung, wurde eine Versuchsreihe unter den sonst eingehaltenen Bedingungen angesetzt.

Wie die Tabelle XXX A zeigt, scheint das Serum nach der Einspritzung des Glykokolls eine nur spurweise Steigerung der Auxowirkung aufzuweisen.

Tabelle XXX A.

Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm 2 % $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 19 Std.

Kaninchenserum vor der Injektion ccm	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3	Kaninchenserum nach der Injektion ccm	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3
2,0	7,33	2,0	7,43
2,0	7,25	2,0	7,50

Nach einigen Tagen wurde an demselben Kaninchen wieder ein Versuch gemacht. Diesmal wurden 50 ccm 10 %iger Glykokollösung, auf 5 Stellen verteilt, subcutan injiziert. 30 Minuten nach der Einspritzung wurden 10 ccm Blut aus der Ohrvene entnommen. Je 2 ccm dieser Seren, vor und nach der Injektion entnommen, wurden zum Versuch benutzt. Aus der Tabelle XXX B ist ersichtlich, daß die beiden Sera keinen deutlichen Unterschied zeigen.

Tabelle XXX B.

Überall 10 ccm 0,3 % Soja, 20 ccm 2 % $\overset{+}{U}$.
Brutschrankaufenthalt 20 Std.

Kaninchenserum vor der Injektion ccm	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3	Kaninchenserum nach der Injektion ccm	Resultat in ccm $^{n}/_{1}$-NH_3
2;0	6,98	2,0	7,02
2,0	6,95	2,0	7,07

Diskussion der Versuchsresultate.

Die von uns bestätigten Ergebnisse der **Falk**schen Arbeit waren insofern auffallend, als die Auxosubstanz sich kochbeständig und doch nicht dialysabel erwies. Sie erschien danach nicht direkt identisch mit den Eiweißkörpern und doch

ihnen irgendwie physikalisch oder chemisch nahestehend zu sein. Unsere Versuche zeigen nun, daß bis zu einem gewissen Grade eine Isolierung von den Eiweißkörpern gelingt. Denn man kann eiweißfreie Fraktionen herstellen, die eine sehr starke Auxowirkung entfalten. Damit soll allerdings nicht gesagt sein, daß die gesamte Auxowirkung ohne Schwierigkeit in diese Fraktionen übergeht. Es ist sehr wohl möglich, daß ein großer Anteil immer dem eigentlichen Eiweiß anhaften bleibt.

Jedenfalls gewinnt man den Eindruck, daß sich Substanzen mit starker Auxowirkung vom Eiweiß abtrennen lassen, deren Natur auch darin zum Ausdruck kommt, daß sie nach der Trennung vom Eiweiß dialysabel sind.

Da wir es für möglich hielten, daß diese Substanzen zu den Aminosäuren gehören, haben wir unsere Untersuchungen auf diese Substanzen ausgedehnt. Wie wir oben gesehen haben, mit ausgesprochen positiven Resultaten.

Eine weitere Frage wäre nun, wie die Auxowirkung der Aminosäuren aufzufassen ist. Darüber wird später zu berichten sein.

Wichtig ist jedenfalls, daß die optische Aktivität ganz ohne Bedeutung für die Auxowirkung ist.

Mit Untersuchungen darüber, ob eine intermediäre Uraminosäurebildung in Betracht kommt, sind wir noch beschäftigt[1]).

Die Erfahrungen bei der Isolierung der Auxosubstanz hatten uns zu der Fragestellung geführt, ob nicht Aminosäuren Auxowirkung hätten. Diese Hypothese hatte sich bestätigt.

Das Resultat der Aminosäureversuche gab nun weiter die Anregung, zu prüfen, ob auch gegenüber der Robinia-Urease ein Parallelismus zwischen Serumwirkung und Aminosäurewirkung besteht. Auch das war der Fall, beide Wirkungen sind bei dieser Urease nur in sehr geringem Umfange nachweisbar.

Wir kommen also zu der Vorstellung, daß auch im Serum der Aminosäurecharakter der Eiweißkörper oder an sie locker gebundener Aminosäuren die Träger der Auxowirkung sind.

---

[1]) Anmerkung bei der Korrektur. Bisher konnten wir eine Ammoniakabspaltung aus den Uraminoverbindungen von Glykokoll und Leucin, die wir uns nach der Vorschrift von Lippich darstellten, durch Soja-Urease nicht nachweisen.

Über die Art und Weise, wie diese Wirkung zustande kommt, können wir zunächst nichts Endgültiges aussagen.

Diesen Standpunkt hat der eine von uns (Jacoby) in unserem Vortrage[1]) in der physiologischen Gesellschaft vertreten. Neuerdings hat nun Rona[2]) gefunden, daß die optimale Wirkung der Soja-Urease bei der Reaktion des Serums stattfindet und daß das Optimum, das man durch Regulierung der Reaktion durch Phosphatgemische hergestellt hat, auch durch Zusatz von Serum nicht mehr gesteigert werden kann. Wir hatten schon vorher Versuche gemacht, ob die von mir gefundenen Resultate etwa durch Reaktionsregulierung erklärt werden könnten und haben nunmehr, nachdem Rona seine Versuche publiziert hat, noch einmal daraufhin die ganze Sachlage durchgeprüft. Aber wir kommen zu dem Schluß, daß es vorläufig unmöglich ist, die Wirkungen unserer Auxosubstanzen so einfach zu erklären. Es läßt sich auf diesem Wege noch nicht verstehen, warum die Dialyse des Serums nicht die Auxowirkung vermindert, wie 0,1 ccm Serum in einer Verdünnung von 34 ccm eine deutliche Verstärkung der Urease ermöglichen kann, oder wie 0,02 g Tyrosin in 55 ccm Flüssigkeit einen großen Ausschlag zustande bringen können.

Zusammenfassung.

1. Kaninchenserum verstärkt, wie in Bestätigung von Falk gefunden wurde, die Wirkung der Soja-Urease sehr erheblich.

2. Aus Hammelserum läßt sich eine sehr wirksame Auxo-Urease isolieren. Man erhält sie, wenn man die Eiweißkörper durch Hitzekoagulation unter Zusatz von Essigsäure entfernt oder wenn man das durch Alkoholfällung erhaltene Eiweißkoagulum mit Wasser extrahiert. Die so isolierte Auxosubstanz ist im Gegensatz zu der Auxosubstanz des nativen Serums dialysabel. Die Auxosubstanz ist durch Pepsin-Salzsäure nicht zerstörbar.

3. Aminosäuren (Glykokoll, Alanin, Tyrosin, Glutaminsäure und Leucin) verstärken die Wirkung der Soja-Urease erheblich, während sie selbst von der Urease nicht gespalten werden.

---

[1]) Sitzung der physiol. Gesellschaft zu Berlin vom 26. VII. 1914. — Vgl. auch Jacoby und Umeda: Über Auxowirkungen und gebundene Aminosäuren des Blutserums. Berl. klin. Wochenschr. Nr. 30, 1914.

[2]) Sitzung der physiol. Gesellschaft zu Berlin vom 26. VII. 1914.

Die Wirkung optisch aktiver Aminosäuren unterscheidet sich nicht von der Wirkung der entsprechenden inaktiven Verbindungen.

4. Asparagin, Witte-Pepton, Casein und Glycyltryptophan verstärken die Wirkung der Soja-Urease, Glutarsäure nicht.

Aus den wirksamen Substanzen spaltet die Urease kein Ammoniak ab.

5. In Bestätigung von Falk wurde gefunden, daß Serum kaum Robinia-Urease verstärkt. Neu ergab sich, daß Glykokoll nur eine ganz minimale Auxowirkung gegenüber der Robinia-Urease ausübt. Also auch hier ein deutlicher Parallelismus zwischen der Wirkung von Serum und Aminosäuren.

6. Die Auxosubstanz findet sich in Kaninchen-, Hammel-, Kälber- und Menschenserum.

7. Durch subcutane Injektion von Glykokoll ließ sich nur spurweise die Auxosubstanz im Serum vermehren.

Über die Wassermannsche Reaktion im normalen Menschenserum.

Von

Friedericke Krauß.

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 22. August 1914.)

Die Ansichten über die Wirkungsweise der komplementbindenden Stoffe luetischer Sera bewegen sich im großen ganzen nach zwei Richtungen hin. Während die meisten Autoren die Theorie, daß es sich um Antikörper gegen den Lueserreger handelt, ablehnen, vertritt die eine Gruppe von Autoren die Anschauung, daß es echte Antikörper sind, die jedoch nicht gegen den Erreger, sondern gegen die Zellbestandteile gerichtet sind [Autoantikörpertheorie von Weil und Braun[1])]. Die andere Gruppe von Autoren sieht in einer nicht genau charakterisierten Veränderung des Serums im kolloidalen Sinne das Wesen der Wassermannschen Reaktion. Die Vorstellung dieser Autoren geht dahin, daß die Lipoide des Serums mit den Lipoiden des Extraktes Komplement fixieren. Obzwar diese Erklärung eigentlich wenig besagt, sondern nur eine Umschreibung der Versuchstatsachen darstellt, so liegt ihr Wesen hauptsächlich darin, daß Antikörper geleugnet werden. Und da diese ausschließlich im lebenden Organismus entstehen, ging auch das Bemühen dieser Autoren dahin, im Reagensglas normale Sera so zu verändern, daß sie sich ähnlich verhalten wie luetische. Die diesbezüglichen Versuche gipfeln also darin, Sera, die nach Wassermann negativ reagieren, positiv zu machen.

Nachdem durch die Untersuchungen von Groß und Volk[2]) die Tatsache festgestellt wurde, daß die ausgefällten Globuline

[1]) Wiener klin. Wochenschr. 17, 1909.

[2]) Wiener klin. Wochenschr. 1908, Nr. 44.

normaler Sera die Wassermannsche Reaktion geben, hat man diesen Eiweißkörpern die Hauptrolle zugeschrieben. In einer sehr eingehenden und interessanten Arbeit hat U. Friedemann[1]) von dieser Tatsache ausgehend gezeigt, daß normale Sera als solche deshalb nach Wassermann negativ reagieren, weil ihr Albuminanteil die komplementbindende Fähigkeit der Globuline verhindert. Bei luetischen Seris ist der Albuminanteil dazu nicht imstande. Außerdem unterscheiden sich die die Wassermannsche Reaktion gebenden Globuline normaler Seris von denen der luetischen dadurch, daß letztere die Erwärmung auf 56° vertragen, erstere bei dieser Temperatur unwirksam werden. Während nun Friedemann die Wassermannsche Reaktion luetischer Sera mit einem veränderten Verhalten der Globuline zu den Albuminen erklärt, hat Weil die Versuche von Friedemann in einem ganz anderen Sinne gedeutet. Nach dessen Auffassung sind im normalen Serum die Antikörper, welche die Wassermannsche Reaktion geben, bereits als normale Antikörper vorhanden und werden ebenso, wie Antikörper überhaupt, mit den Globulinen des Serums ausgefällt. Im luetischen Serum erfahren nun diese Antikörper einerseits eine Vermehrung, andererseits erlangen sie eine erhöhte Thermoresistenz. Es besteht zwischen ihnen und den Antikörpern des normalen Serums dasselbe Verhältnis, in dem normale und Immunantikörper überhaupt stehen. So werden zum Beispiel normale Agglutinine bei 60° sehr stark abgeschwächt, oft schon zerstört, während die Immunagglutinine überhaupt nicht wesentlich tangiert werden. Daß die Albumine die Wassermannsche Reaktion im normalen Serum aufheben, nicht aber im luetischen, beruht auf der stärkeren Wirksamkeit letzterer, die eben auch schädigenden Einflüssen gegenüber besser standhalten. Diese Erwägungen berücksichtigend, haben wir die nachfolgenden Versuche unternommen, die von den Experimenten jener Autoren ihren Ausgang nehmen, die in normalen Seris eine Wassermannsche Reaktion erzeugt haben. Während nun die Auffassung dieser Autoren dahin geht, daß durch die verschiedenen Einflüsse dem Serum neue Qualitäten verliehen werden, suchten wir nachzuweisen, daß dies nicht der Fall ist, sondern

[1]) Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. 67, 1910.

daß die bereits im normalen Serum vorhandenen Antikörper durch irgendwelche Umstände verdeckt würden und daß ihre Wirkung durch die Wegschaffung dieser Hemmung erst hervortritt. Durch die Untersuchungen von Tojosumi[1]), Spät[2]) Nakano[3]) wissen wir, daß die komplementbindenden Stoffe luetischer Sera durch Organemulsion gebunden werden, so daß zum Beispiel ein mit Leberzellen behandeltes luetisches Serum seine komplementbindende Kraft verliert. Außerdem hat Spät estgestellt und dann Nakano bestätigt, daß die Organzellen, die mit luetischen Seris in Kontakt waren, nun ihrerseits die Fähig keit erlangen, Komplement zu binden. Diese Versuchsanordnung schlugen wir ein, um zu prüfen, ob die normalen Sera, die durch Veränderungen verschiedenster Art komplementbindend geworden waren, die komplementbindenden Stoffe schon von vornherein besaßen, oder ob diese erst durch die Behandlung entstanden waren. War nämlich ersteres der Fall, so müßten die Organemulsionen, die mit den normalen Seris in Kontakt waren, komplementbindend wirken, obzwar das Serum als solches diese Eigenschaft nicht von vornherein besaß, sondern erst durch die Behandlung erlangt hatte. War letzteres der Fall, so dürften die mit dem Serum behandelten Zellemulsionen erst komplementbindend wirken, nachdem die Sera durch verschiedenartige Behandlung komplementbindende Kraft erlangt hatten.

Wir haben zunächst die Methode von Klausner[4]) und Baß angewendet, denen es gelungen ist, durch Durchlüftung mit Chloroformluft positive Wassermansche Reaktion bei normalen Seris zu erzielen. Die Versuchsanordnung entsprach vollkommen der von Klausner und Baß.

Versuch 1. Wie wir diesem Versuchsprotokoll entnehmen, gelingt es ohne weiteres, ein negativ reagierendes Serum durch Chloroformluft positiv zu machen. Weiter geht daraus hervor, daß die Erwärmung auf 56° die positive Reaktion in eine glatt negative umwandelt. Wir können also die Angaben von Klausner und Baß vollinhaltlich bestätigen. Auf einen Umstand müssen wir besonders hinweisen: als normale Sera verwendeten wir

---

[1]) Zeitschr. f. Bakteriol. **51**.

[2]) Folia Serologica **5**, Heft 4.

[3]) Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. **76**.

[4]) Diese Zeitschr. **66**.

solche von Wöchnerinnen, und da kam es gar nicht selten vor, daß diese im aktiven Zustande an sich schon eine positive Reaktion aufwiesen, so daß wir oft mehrere Sera untersuchen mußten, bevor wir ein einwandfreies, aktiv-negatives Serum fanden.

Versuch 1.

Normales Menschenserum wurde in der angegebenen Weise 18 Stunden mit Chloroformluft durchlüftet und sowohl aktiv als auf 56° erhitzt, auf Wassermannsche Reaktion geprüft. Als Kontrolle dasselbe Serum unbehandelt. Als Extrakt wurde derselbe alkoholische Extrakt (1 Herz eines Meerschweinchens, ungefähr 1 g, + 20 ccm Alkohol 1 bis 2 Stunden bei 60° erhitzt und hierauf filtriert) verwendet, wie er in unserem Institut zur Wassermannschen Reaktion benutzt wird. Die Menge wurde durch einen Vorversuch festgestellt. Das chloroformierte Serum wurde erst einige Stunden nach der Durchlüftung untersucht.

	Serumdosen ccm + Extrakt ccm + Kpl. ccm		Resultat	Versuchsanordnung wie in nebenstehendem Versuch: Resultat desselben Serums, sowohl unbehandelt als chloroformiert, $^1/_2$ Std. auf 56° erhitzt	Resultat nach 15 Minuten langem Inaktivieren:	Resultat nach 10 Minuten langem Inaktivieren:
Serum, aktiv unbehandelt	0,4 + 0,2 + 0,05	Nach 1 Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen je 1 ccm 5%igen 3 fach sensibilisierten Hammelblutes	k.	k.	k.	k.
	0,2 + 0,2 + 0,05		k.	k.	k.	k.
	0,1 + 0,2 + 0,05		k.	k.	k.	k.
	0,05 + 0,2 + 0,05		k.	k.	k.	k.
	NaCl					
	0,4 + 0,2 + 0,05		k.	k.	k.	k.
	0,2 + 0,2 + 0,05		k.	k.	k.	k.
	0,1 + 0,2 + 0,05		k.	k.	k.	k.
	0,05 + 0,2 + 0,05		k.	k.	k.	k.
	Extr.					
Serum, chloroformiert aktiv	0,4 + 0,2 + 0,05		0	k.	k.	s. st.
	0,2 + 0,2 + 0,05		0	k.	k.	f. k.
	0,1 + 0,2 + 0,05		0	k.	k.	k.
	0,05 + 0,2 + 0,05		0	k.	k.	k.
	NaCl					
	0,4 + 0,2 + 0,05		k.	k.	k.	k.
	0,2 + 0,2 + 0,05		k.	k.	k.	k.
	0,1 + 0,2 + 0,05		k.	k.	k.	k.
	0,05 + 0,2 + 0,05		k.	k.	k.	k.

Zeichenerklärung:
k. = komplette Lösung,
f. k. = fast komplette Lösung,
s. st. = sehr starke Lösung,
0 = starke Hemmung,
Kpl. = Komplement.

Dieser Versuch wurde ungefähr zehnmal mit gleichem Resultat ausgeführt.

Die Anordnung der weiteren Versuche war nun folgende: Wir haben stets ein normales, d. i. negativ reagierendes Serum, dasselbe nach der Chloroformluftbehandlung und ein luetisches Serum, das 1/2 Stunde auf 56° inaktiviert wurde, untersucht.

Versuch 2.

Eine Leber eines Meerschweinchens wurde zerrieben und durch ein Netz gedrückt und hierauf 2 mal mit NaCl gewaschen.

I:	2 ccm normales Serum	+ 2 g Leber	Nach 1 Stunde bei Zimmertemperatur zentrifugiert. Der Bodensatz einmal gewaschen.
II:	2 „ chloroformiertes Serum	+ 2 g „	
III:	2 „ Luesserum	+ 2 g „	
IV:	2 „ NaCl	+ 2 g „	

	Serumdosen + Extrakt (ccm + ccm)		Resultat		Versuchsordnung wie vorstehend	Resultat			Leberemulsion- + Kpl.dosen (ccm + ccm)		Resultat
I Normal-Menschenserum	0,4 + 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 ccm Komplement und nach 1 Std. je 1 ccm 5%, 3 fach sensibilisierter Hammelblutkörperchen	k.	Dieselben Sera nach der Behandlung mit Leber	I Normalserum	f. k.	Die Leberbodensätze wurden nach der Behandlung der Sera einmal gewaschen, dann mit 1 ccm NaCl aufgeschwemmt und in verschiedenen Dosen auf Komplementbindung geprüft	I Bodensatz nach dem Normalserum	0,5 + 0,05	Zu allen Röhrchen nach 1 Std. bei 37° je 1 ccm 5%, 3 fach sensibilisierter Hammelblutkörperchen	0
	0,2 + 0,2		k.			f. k.			0,25 + 0,05		0
	0,1 + 0,2		k.			k.			0,1 + 0,05		s. st.
	0,05 + 0,2		k.			k.			0,05 + 0,05		s. st.
	NaCl										
	0,4 + 0,2		k.			k.					
	0,2 + 0,2		k.			k.					
	0,1 + 0,2		k.			k.					
	0,05 + 0,2		k.			k.					
II Dasselbe Serum 15 Std. mit Chloroform durchlüftet	Extr.				II Chloroformiert			II Nach dem Chloroformserum			
	0,4 + 0,2		0			f. k.			0,5		0
	0,2 + 0,2		0			f. k.			0,25		0
	0,1 + 0,2		0			k.			0,1		s. st.
	0,05 + 0,2		Sp.			k.			0,05		s. st.
	NaCl										
	0,4 + 0,2		k.			k.					
	0,2 + 0,2		k.			k.					
	0,1 + 0,2		k.			k.					
	0,05 + 0,2		k.			k.					
III Luesserum	Extr.				III Luesserum			III Nach Luesserum			
	0,4 + 0,2		0			k.			0,5		0
	0,2 + 0,2		0			k.			0,25		0
	0,1 + 0,2		0			k.			0,1		0
	0,05 + 0,2		0			k.			0,05		0
	NaCl										
	0,4 + 0,2		k.			k.					
	0,2 + 0,2		k.			k.					
	0,1 + 0,2		k.			k.					
	0,05 + 0,2		k.			k.					
								IV Nach NaCl	0,5		k.
									0,25		k.
									0,1		k.
									0,05		k.

Hierauf wurden sämtliche mit Meerschweinchenleber behandelt und sowohl Abgüsse als auch Rückstände mit den entsprechenden Kontrollen untersucht. Die näheren Angaben gehen aus den Versuchsprotokollen hervor.

Versuch 2. Diesem Versuche entnimmt man, daß, wie bereits früher bekannt war, die Behandlung mit Leber das luetische Serum seiner komplementbindenden Fähigkeit beraubt. Wir sehen weiter, daß die Leberzellen auf das mit Chloroform durchlüftete Serum in derselben Weise einwirken. Das normale Serum weist eine Veränderung durch die Leberbehandlung nur insofern auf, als es in höheren Dosen eine Spur Eigenhemmung zeigt. Aus den Bodensätzen ersehen wir, daß in ganz gleicher Weise sowohl das normale, negative unbehandelte Serum (Kol. I) als auch dasselbe, durch die Behandlung mit Chloroform positiv gewordene, Stoffe besitzen, die der Leber-Emulsion komplementbindende Kraft verleihen. Da nun diese aus dem positiven Serum verschwunden sind, so ist damit erwiesen, daß sie es sind, die den positiven Wassermann hervorrufen. Es geht aus diesen Versuchen mit Klarheit hervor, daß das normale, unbehandelte Serum genau dieselbe Menge der komplementbindenden Stoffe enthält wie das mit Chloroformluft behandelte, obwohl ersteres nach Wassermann einwandfrei negativ reagierte. Die mit Luesserum behandelten Leberzellen wirken deutlich stärker komplementbindend, was wiederum auf eine größere Menge der im luetischen Serum vorhandenen komplementbindenden Stoffe hinweist. Da sämtliche Kontrollen, insbesondere die Leber-Emulsion, allein glatt gelöst werden, also eine wesentliche Eigenhemmung nicht besteht, so sind die Versuchsresultate als einwandfrei zu bezeichnen.

Versuch 3. Der beifolgende Versuch ergibt ganz genau dasselbe Resultat.

Versuch 4. In diesem Versuche haben wir insofern eine Erweiterung geschaffen, als wir das normale Serum dieselbe Zeit, während der die Chloroform-Behandlung durchgeführt wurde, bei Licht und Zimmertemperatur aufbewahrten. Eine wesentliche Veränderung ist dadurch nicht eingetreten, obwohl es nicht von der Hand zu weisen ist, daß durch bloßes Stehen durch längere Zeit ein negatives Serum positiv reagieren kann, worauf bereits mehrere Autoren hinwiesen. Sonst ergibt dieser Versuch dasselbe Resultat wie die beiden vorangehenden.

Versuch 3.

Chloroformdurchlüftung sowie die Behandlung der Sera I bis IV mit Meerschweinchenleber wie im vorigen Versuche.

	Serumdosen + Extrakt (ccm + ccm)		Resultat		Extrakt und Serumdosen wie vorstehend	Resultat			Dosen ccm		Resultat
I Normalserum	0,4 + 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,5 ccm Komplement und nach 1 Std. bei 37° je 1 ccm 5%, 3 fach sensibilisierter Hammelblutkörperchen	k.	Je 20 ccm dieser Seris wurden in der angegebenen Weise mit Leber behandelt und sowohl Abgüsse als Bodensatz untersucht	I Normalserum behandelt	f. k.	Bodensätze nach der Behandlung der verschiedenen Seris	I	0,5	Zu jedem Röhrchen 0,05 ccm Komplement und nach 1 Std. bei 37° je 1 ccm 5%, 3 fach sensibilisierter Hammelblutkörperchen	0
	0,25 + 0,2		k.			k.			0,25		Sp.
	0,1 + 0,2		k.			k.			0,1		f. k.
	0,05 + 0,2		k.			k.			0,05		k.
	NaCl										
	0,4 + 0,2		k.			k.					
	0,25 + 0,2		k.			k.					
	0,1 + 0,2		k.			k.					
	0,05 + 0,2		k.			k.					
II Dasselbe Serum 18 Std. mit Chloroform durchlüftet	Extr.				II Chloroformiertes Serum behandelt			II			
	0,4 + 0,2		0			f. k.			0,5		0
	0,25 + 0,2		0			k.			0,25		Sp.
	0,1 + 0,2		0			k.			0,1		f. k.
	0,05 + 0,2		0			k.			0,05		k.
	NaCl										
	0,4 + 0,2		f. k.			k.					
	0,25 + 0,2		k.			k.					
	0,1 + 0,2		k.			k.					
	0,05 + 0,2		k.			k,					
III Luesserum	Extr.				III Luesserum behandelt			III			
	0,4 + 0,2		0			k.			0,5		0
	0,25 + 0,2		0			k.			0,25		0
	0,1 + 0,2		0			k.			0,1		0
	0,05 + 0,2		0			k.			0,05		deutl.
	NaCl										
	0,4 + 0,2		k.			k.					
	0,25 + 0,2		k.			k.					
	0,1 + 0,2		k.			k.					
	0,05 + 0,2		k.			k.					
								IV Bodensatz nach Behandlung mit NaCl	0,5		k.
									0,25		k.
									0,1		k.
									0,05		k.

Von Interesse ist Versuch 5. Es ist hier nicht gelungen, durch Chloroformdurchlüftung ein positives Serum zu erzeugen, und tatsächlich ergibt auch die Behandlung mit Leber ein negatives Resultat, indem die Bodensätze keine Spur von Komplementbindung zeigen. Dies weist darauf hin, daß diesem Serum die normalen Antikörper, welche die Wassermannsche

Versuch 4.

Chloroformdurchlüftung sowie die Behandlung der Seris mit Meerschweinchenleber wie bisher. Das Normalserum wurde wie bisher im Eisschrank 18 Stunden (solange die Chloroformierung dauerte) aufbewahrt, ein zweiter Teil bei Zimmertemperatur bei dem Durchlüftungsapparat.

	Serum-dosen + Extrakt ccm ccm		Resultat	Serum-u. Extraktdosen wie vorstehend		Re-sultat			Dosen		Resultat
I Normalserum im Eisschrank aufbewahrt	0,2 + 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 ccm Komplement und nach 1 Std. bei 37° je 1 ccm 5%, 3fach sensibilisierter Hammelblutkörperchen	k.	Dieselben Seris nach der Behandlung mit Leber	I	k.	Bodensätze nach den behandelten Seris	I	0,5	Zu jedem Röhrchen 0,05 ccm Komplement und nach 1 Std. bei 37° je 1 ccm 5%, 3fach sensibilisierter Hammelblutkörperchen	0
	0,1 + 0,2		k.			k.			0,25		Sp.
	0,05 + 0,2		k.			k.			0,1		f. k.
	0,025 + 0,2		k.			k.			0,05		k.
	NaCl										
	0,2 + 0,2		k.			k.					
	0,1 + 0,2		k,			k.					
	0,05 + 0,2		k.			k.					
	0,025 + 0,2		k.			k.					
II Normalserum bei Zimmertemperatur	Extr.				II			II			
	0,2 + 0,2		f. k.			k.			0,5		0
	0,1 + 0,2		f. k.			k.			0,25		Sp.
	0,05 + 0,2		k.			k.			0,1		k.
	0,025 + 0,2		k.			k.			0,05		k.
	NaCl										
	0,2 + 0,2		k.			k.					
	0,1 + 0,2		k.			k.					
	0,05 + 0,2		k.			k.					
	0,025 + 0,2		k.			k.					
III Serum chloroformiert	Extr.				III			III			
	0,2 + 0,2		0			k.			0,5		0
	0,1 + 0,2		0			k.			0,25		Sp.
	0,05 + 0,2		0			k.			0,1		f. k.
	0,025 + 0,2		Sp.			k.			0,05		k.
	NaCl										
	0,2 + 0,2		k.			k.					
	0,1 + 0,2		k.			k.					
	0,05 + 0,2		k.			k.					
	0,025 + 0,2		k.			k.					
IV Luesserum	Extr.				IV			IV			
	0,2 + 0,2		0			k.			0,5		0
	0,1 + 0,2		0			k.			0,25		0
	0,05 + 0,2		0			k.			0,1		0
	0,025 + 0,2		0			k.			0,05		Sp.
	NaCl										
	0,2 + 0,2		k.			k.					
	0,1 + 0,2		k.			k.					
	0,05 + 0,2		k.			k.					
	0,025 + 0,2		k.			k.					
								V Nach Behandlung mit NaCl	0,5		k.
									0,25		k.
									0,1		k.
									0,05		k.

Reaktion im aktiven Zustande geben, fehlen. Daß die Versuchsanordnung auch hier einwandfrei ist, beweist das positive Resultat mit dem Luesserum.

Versuch 5.

Die Chloroformdurchlüftung, sowie die Behandlung mit Leber wurde in der schon angegebenen Weise vorgenommen.

	Serumdosen ccm + Extrakt ccm		Resultat			Resultat			Dosen		Resultat
Serum normal aktiv	0,4 + 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 ccm Komplement und nach 1 Stunde je 1 ccm 5%₀ 3fach sensibilisierter Hammelblutkörperchen	k.	Dieselben Sera nach der Behandlung mit Leber. Versuchsanordnung wie vorstehend	Normalserum	k.	Bodensätze nach der Behandlung der Sera	Nach Normalserum	0,5	Zu jedem Röhrchen 0,05 ccm Komplement und nach 1 Stunde je 1 ccm 5%₀ 3fach sensibilisierter Hammelblutkörperchen	k.
	1,25 + 0,2		k.			k.			0,25		k.
	0,1 + 0,2		k.			k.			0,1		k.
	0,05 + 0,2		k.			k.			0,05		k.
	NaCl										
	0,4 + 0,2		k.			k.					
	0,25 + 0,2		k.			k.					
	0,1 + 0,2		k.			k.					
	0,05 + 0,2		k.			k.					
	Extr.										
Serum chloroformiert aktiv	0,4 + 0,2		k.		Chloroformiert	k.		Nach dem chloroformierten Serum	0,5		k.
	0,25 + 0,2		k.			k.			0,25		k.
	0,1 + 0,2		k.			k.			0,1		k.
	0,05 + 0,2		k.			k.			0,05		k.
	NaCl										
	0,4 + 0,2		k.			k.					
	0,25 + 0,2		k.			k.					
	0,1 + 0,2		k.			k.					
	0,05 + 0,2		k.			k.					
	Extr.										
Luesserum	0,4 + 0,2		0		Lues	k.		Nach Luesserum	0,5		0
	0,25 + 0,2		0			k.			0,25		0
	0,1 + 0,2		0			k.			0,1		0
	0,05 + 0,2		0			k.			0,05		0
	NaCl										
	0,4 + 0,2		k.			k.					
	0,25 + 0,2		k.			k.					
	0,1 + 0,2		k.			k.					
	0,05 + 0,2		k.			k.					
								Nach NaCl	0,5		k.
									0,25		k.
									0,1		k.
									0,05		k.

Die weiteren Versuche schlossen sich an eine Mitteilung von Hirschfeld und Klinger an, denen es gelang, durch verschiedenartige Behandlung negativer Sera positive Reaktion zu erzielen. Da diese stets mit einer Trübung des vorher klaren Serums verbunden war, was auch andere Autoren,

P. Schmidt usw., beobachtet hatten, so machen sie diese Trübung für die positive Reaktion verantwortlich. Sie stellen sich nämlich das Wesen derselben in einer Zustandsänderung der Serumglobuline vor, die sie „Labilisierung" nennen. Da nach Inaktivierung diese Zustandsänderung nicht mehr eintritt, können also die Globuline eine „Stabilisierung" erfahren. Die Mittel, die sie zur Behandlung anwandten, bestanden in Bakterien, Blut, Kohle, Kaolin und Agar.

Wir haben nun eine Reihe von Versuchen angestellt, um zu sehen, ob auch für diese Serumveränderungen die oben ausgeführten Tatsachen Giltigkeit haben. Wir haben zunächst ein Serum mit Bakterien behandelt, um zu untersuchen, ob es überhaupt gelingt, die Resultate von Hirschfeld und Klinger zu erzielen.

Versuch 6. Wir entnehmen diesem Versuche, daß Bakterien ein negatives Serum ohne weiteres positiv machen.

Ein aktives, nach Wassermannscher Reaktion negativ reagierendes Menschenserum wurde in der Dosis von 2 ccm mit einer Kultur Coli und ebensoviel mit einer Kultur Prodigiosus 1 Stunde bei 37° behandelt, dann ganz klar zentrifugiert, danach die Wassermannsche Reaktion angestellt.

Versuch 6.

Serum unbehandelt + Extrakt ccm ccm		Resultat	Serum behandelt mit Coli + Extrakt ccm ccm		Resultat
0,2 + 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 ccm Komplement und nach 1 Stunde 1 ccm 5%, 3fach sensibilisiertes Hammelblut	k.	0,2 + 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 ccm Komplement und nach 1 Stunde je 1 ccm 5%, 3fach sensibilisiertes Hammelblut	0
0,1 + 0,2		k.	0,1 + 0,2		0
NaCl			NaCl		
0,2 + 0,2		k.	0,2 + 0,2		k.
0,1 + 0,2		k.	0,1 + 0,2		k.
Serum unbehandelt + Extrakt ccm ccm			**Serum behandelt mit Prodigiosus + Extrakt** ccm ccm		
0,2 + 0,2		k.	0,2 + 0,2		0
0,1 + 0,2		k.	0,1 + 0,2		0
NaCl			NaCl		
0,2 + 0,2		k.	0,2 + 0,2		k.
0,1 + 0,2		k.	0,1 + 0,2		k.
Extrakt NaCl					
0,2 + 1,8		k.			

Dieselben Sera, sowohl unbehandelt als auch behandelt, sowie als Kontrolle ein Luesserum und bloß NaCl wurden wie in unseren früheren Versuchen mit 1 g Meerschweinchenleber (zerrieben und durch Zentrifugieren 2 mal gewaschen) $^3/_4$ Stunde bei 37^0 behandelt, hierauf zentrifugiert, der Abguß auf Wassermannsche Reaktion, sowie die Bodensätze auf Komplementbindung geprüft.

Nun wurde die Behandlung mit Leber vorgenommen.

Versuch 7. Auch dieser Versuch ergibt dasselbe Resultat wie sämtliche vorhergehenden, indem sich sowohl aus dem normalen negativen Serum, als aus den durch Behandlung mit Coli und Prodigiosus positiv gewordenen Seris dieselbe Menge von Antikörpern in den Leberemulsionen vorfinden, um Komplement zu binden.

Versuch 8 stellt eine Wiederholung des letzten Versuches dar mit genau demselben Resultat.

Versuch 7.

	Serumdosen ccm	+	Extrakt ccm		Resultat		Serumdosen ccm	+	Extrakt ccm		Resultat
I. Luesserum, behandelt mit Leber	0,2	+	0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 ccm Komplement und nach 1 Stunde je 1 ccm 5 %, 3 fach sensibilisiertes Hammelblut	wenig	Luesserum, behandelt mit Leber	0,2	+	0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 ccm Komplement, nach 1 Stunde bei 37° je 1 ccm 5 %, 3 fach sensibilisiertes Hammelblut	wenig
	0,1	+	0,2		deutl.		0,1	+	0,2		deutl.
			NaCl						NaCl		
	0,2	+	0,2		k.		0,2	+	0,2		k.
	0,1	+	0,2		k.		0,1	+	0,2		k.
II. Serum, das vorher mit Coli behandelt wurde, nach der Behandlung mit Leber			Extr.			Serum, das vorher mit Prodigiosus behandelt war, nach Behandlung mit Leber			Extr.		
	0,2	+	0,2		Sp.		0,2	+	0,2		Sp.
	0,1	+	0,2		Sp.		0,1	+	0,2		Sp.
			NaCl						NaCl		
	0,2	+	0,2		k.		0,2	+	0,2		k.
	0,1	+	0,2		k.		0,1	+	0,2		k.
III. Dasselbe negative Serum ohne Behandlung mit Coli			Extr.			Dasselbe Serum normal, nach der Leberbehandlung			Extr.		
	0,2	+	0,2		deutl.		0,2	+	0,2		deutl.
	0,1	+	0,2		deutl.		0,1	+	0,2		deutl.
			NaCl						NaCl		
	0,2	+	0,2		k.		0,2	+	0,2		k.
	0,1	+	0,2		k.		0,1	+	0,2		k.
IV. NaCl nach der Behandlung mit Leber			Extr.			NaCl nach der Behandlung mit Leber			Extr.		
	0,2	+	0,2		k.		0,2	+	0,2		k.
	0,1	+	0,2		k.		0,1	+	0,2		k.
			NaCl						NaCl		
	0,2	+	0,2		k.		0,2	+	0,2		k.
	0,1	+	0,2		k.		0,1	+	0,2		k.

Die Leberbodensätze wurden nach der Behandlung der Sera auf Komplementbindung geprüft. Vorerst wurden die Sätze mit NaCl gewaschen und dann in 1 ccm NaCl aufgeschwemmt.

	Dosen + Kpl. ccm ccm		Resultat
Satz nach Luesserum	0,5 + 0,05	Zu jedem Röhrchen nach 1 Stunde bei 37° je 1 ccm 5%, 3 fach sensibilis. Hammelbl.	0
	0,25 + 0,05		0
	0,1 + 0,05		0
	0,05 + 0,05		0
Nach dem vorher mit Coli behandelten Serum	0,5 + 0,05		0
	0,25 + 0,05		0
	0,1 + 0,05		0
	0,05 + 0,05		Sp.
Nach demselben Normalserum	0,5 + 0,05		0
	0,25 + 0,05		0
	0,1 + 0,05		0
	0,05 + 0,05		Sp.
Nach NaCl	0,5 + 0,05		k.
	0,25 + 0,05		k.
	0,1 + 0,05		k.
	0,05 + 0,05		k.

	Dosen + Kpl. ccm ccm		Resultat
Lebersatz nach dem vorher mit Prodigiosus behandelt. Serum	0,5 + 0,05	Nach 1 Stunde bei 37° je 1 ccm 5%, 3 fach sensibilisiertes Hammelblut	0
	0,25 + 0,05		0
	0,1 + 0,05		0
	0,05 + 0,05		Sp.
Nach demselben Normalserum	0,5 + 0,05		0
	0,25 + 0,05		0
	0,1 + 0,05		0
	0,05 + 0,05		Sp.

Versuch 8.

Dieselben Versuche wiederholt. Behandlung der Normalsera mit Coli und Prodigiosus, sowie nachträglich mit Leber, genau wie im vorigen Versuch.

	Serumdosen + Extrakt ccm ccm		Resultat
Normalserum I	0,2 + 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 ccm Komplement und nach 1 Stunde bei 37° 1 ccm 5%, 3fach sensibilisiertes Hammelblut	k.
	0,1 + 0,2		k.
	NaCl		
	0,2 + 0.2		k.
	0,1 + 0,2		k.
Dasselbe, behandelt mit Coli	Extr.		
	0,2 + 0,2		0
	0,1 + 0,2		0
	NaCl		
	0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		k.
Luesserum	Extr.		
	0,2 + 0,2		0
	0,1 + 0,2		0
	NaCl		
	0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		k.

	Serumdosen + Extrakt ccm ccm		Resultat
Normalserum II	0,2 + 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 ccm Komplement und nach 1 Stunde 3fach sensibilisiertes Hammelblut	k.
	0,1 + 0,2		k.
	NaCl		
	0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		k.
Dasselbe, behandelt mit Prodigiosus	Extr.		
	0,2 + 0,2		0
	0,1 + 0,2		0
	NaCl		
	0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		k.

Dieselben Sera nach der **Behandlung mit Leber.**

	Serumdosen ccm	+ Extrakt ccm		Resultat		Serumdosen ccm	+ Extrakt ccm		Resultat
Normalserum I	0,2	+ 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 ccm Komplement und nach 1 Stunde bei 37° je 1 ccm 5%, 3fach sensibilisiertes Hammelblut	Sp.	Normalserum II	0,2	+ 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 ccm Komplement und nach 1 Stunde bei 37° je 1 ccm 5%, 3fach sensibilisiertes Hammelblut	deutl.
	0,1	+ 0,2		deutl.		0,1	+ 0,2		k.
		NaCl					NaCl		
	0,2	+ 0,2		k.		0,2	+ 0,2		k.
	0,1	+ 0,2		k.		0,1	+ 0,2		k.
Das mit Coli behandelte Serum		Extr.			Das mit Prodigiosus behandelte Serum		Extr.		
	0,2	+ 0,2		Sp.		0,2	+ 0,2		Sp.
	0,1	+ 0,2		deutl.		0,1	+ 0,2		deutl.
		NaCl					NaCl		
	0,2	+ 0,2		k.		0,2	+ 0,2		k.
	0,1	+ 0,2		k.		0,1	+ 0,2		k.
Luesserum		Extr.			NaCl nach der Behandlung mit Leber		Extr.		
	0,2	+ 0,2		stark		0,2	+ 0,2		k.
	0,1	+ 0,2		stark		0,1	+ 0,2		k.
		NaCl					NaCl		
	0,2	+ 0,2		k.		0,2	+ 0,2		k.
	0,1	+ 0,2		k.		0,1	+ 0,2		k.

Die auf Komplementbindung geprüften Lebersätze nach der Behandlung der Sera.

	Dosen ccm	+ Kpl. ccm		Resultat		Dosen ccm	+ Kpl. ccm		Resultat		Dosen ccm	+ Kpl. ccm		Resultat
Satz nach Luesserum	0,5	+ 0,05	Nach 1 St. b. 37° je 1 ccm 5%, 3fach sens. Hammelbl.	0	Satz nach Normalserum I	0,5	+ 0,05	Nach 1 St. je 1 ccm 5%, 3 f. sensib. Hammelblutk.	0	Satz nach Normalserum II	0,5	+ 0,05	Nach 1 St. je 1 ccm 5%, 3fach sensib. Hammelbl.	0
	0,25	+ 0,05		0		0,25	+ 0,05		0		0,25	+ 0,05		0
	0,1	+ 0,05		0		0,1	+ 0,05		Sp.		0,1	+ 0,05		0
	0,05	+ 0,05		0		0,05	+ 0,05		Sp.		0,05	+ 0,05		deutl.
Nach NaCl	0,5	+ 0,05		k.	Nach dem mit Coli behandelten Serum	0,5	+ 0,05		0	Satz nach d. mit Prodigiosus beh. Serum	0,5	+ 0,05		0
	0,25	+ 0,05		k.		0,25	+ 0,05		0		0,25	+ 0,05		0
	0,1	+ 0,05		k.		0,1	+ 0,05		Sp.		0,1	+ 0,05		0
	0,05	+ 0,05		k.		0,05	+ 0,05		Sp.		0,05	+ 0,05		deutl.

In folgenden Versuchen haben wir die Behandlung der normalen Seren nach den Angaben von Hirschfeld und Klinger mit Hammel- und Meerschweinchenblut vorgenommen und haben ebenso wie mit Bakterien ein positives Resultat erzielt (Versuche 9 und 10). Die Behandlung mit Leber weist bezüglich der normalen, unbehandelten Sera keine Differenz auf. Nur das Luesserum erweist sich viel wirksamer.

In den folgenden Versuchen wurde ebenfalls nach den Angaben von Hirschfeld und Klinger durch Schütteln eine positive Reaktion erzielt, und zwar gelingt es, wie Versuch 11

zeigt, durch 4stündiges als auch, wie wir Versuch 12 entnehmen, durch 1stündiges Schütteln, positive Reaktion zu erzeugen. Auch hier übt die Leberbehandlung denselben Einfluß aus wie in sämtlichen früheren Versuchen, indem sie aus dem normalen Serum dieselbe Menge von komplementbindenden Stoffen fixiert wie aus dem durch Schütteln veränderten.

Versuch 9.

Zwei nach Wassermannscher Reaktion negative Menschensera wurden a) mit **Hammelblut**, b) mit **Meerschweinchenblut** behandelt und darauf nach **Wassermann** untersucht.

Die Behandlung geschah in der Weise, daß das genannte Blut, 2 ccm, 2mal mit NaCl in der Zentrifuge gewaschen und mit dem Satz je 2 ccm Serum $^3/_4$ Stunde bei 37^0 behandelt wurden.

	Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat		Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat		Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat
Serum a,	0,2 + 0,2	Zu jedem Röhrch. 0,05 Kpl. u. nach 1 St. 1 ccm 3fach sensib. Hammelbl.	k.	Normal-	0,2 + 0,2	Zu jedem Röhrch. 0,05 Kpl. u. nach 1 St. 1 ccm 5%, 3fach sensib. Hammelbl.	k.	Lues-	0,2 + 0,2	0,05 Kpl., nach 1 St. sensib. Hammelbl.	0
unbehan-	0,1 + 0,2		k.	serum b	0,1 + 0,2		k.	serum	0,1 + 0,2		0
delt	NaCl				NaCl				NaCl		
	0,2 + 0,2		k.		0,2 + 0,2		k.		0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		k.
	Extr.				Extr.						
Dasselbe	0,2 + 0,2		0	Dasselbe,	0,2 + 0,2		0				
nach der	0,1 + 0,2		0	behandelt	0,1 + 0,2		0				
Behandl.	NaCl			mit Meer-	NaCl						
mit Ham-	0,2 + 0,2		k.	schwein-	0,2 + 0,2		k.				
melblut	0,1 + 0,2		k.	chenblut	0,1 + 0,2		k.				

Dieselben Sera nach der im vorigen Versuch angegebenen Behandlung mit Leber:

	Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat		Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat		Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat
Normal-	0,2 + 0,2	Zu jedem Röhrch. 0,05 Kpl. u. nach 1 St. 1 ccm 3fach sensib. Hammelbl.	k.	Normal-	0,2 + 0,2	Zu jedem Röhrch. 0,05 Kpl. u. nach 1 St. 1 ccm 5%, 3fach sensib. Hammelbl.	k.	Lues-	0,2 + 0,2	0,05 Kpl., nach 1 St. 3fach sensib. Hammelblut	f.k.
serum a	0,1 + 0,2		k.	serum b	0,1 + 0,2		k.	serum	0,1 + 0,2		f.k.
	NaCl				NaCl			nach der	NaCl		
	0,2 + 0,2		k.		0,2 + 0,2		k.	Leber-	0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		k.	behandl.	0,1 + 0,2		k.
	Extr.				Extr.				Extr.		
Dasselbe	0,2 + 0,2		Sp.	Dasselbe	0,2 + 0,2		deutl.	NaCl	0,2 + 0,2		k.
Serum,	0,1 + 0,2		deutl.	Serum, vor-	0,1 + 0,2		deutl.	nach der	0,1 + 0,2		k.
zuvor mit	NaCl			her beh.	NaCl			Leber-	NaCl		
Ham-	0,2 + 0,2		k.	mit Meer-	0,2 + 0,2		k.	behandl.	0,2 + 0,2		k.
melblut	0,1 + 0,2		k.	schwein-	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		k.
behandelt				chenblut							

Die auf Komplementbindung geprüften Lebersätze nach der Behandlung der Sera:

	Dosen + Kpl. ccm ccm		Resultat		Dosen + Kpl. ccm ccm		Resultat		Dosen + Kpl. ccm ccm		Resultat
Lebersatz	0,5 + 0,05	Nach 1 St. je 1 ccm 5%. 3fach sensib. Hammelbl.	0	Lebersatz	0,5 + 0,05	Nach 1 St. je 1 ccm 5%. 3fach sensib. Hammelbl.	0	Lebersatz	0,5 + 0,05	Nach 1 St. je 1 ccm 5%. 3fach sensib. Hammelbl.	0
nach Luesserum	0,25 + 0,05		0	nach	0,25 + 0,05		0	nach	0,25 + 0,05		0
	0,1 + 0,05		0	Normalserum a	0,1 + 0,05		deutl.	Normalserum b	0,1 + 0,05		0
	0,05 + 0,05		0		0,05 + 0,05		f. k.		0,05 + 0,05		f. k.
Lebersatz	0,5 + 0,05		k.	Lebersatz	0,5 + 0,05		0	Nach dem	0,5 + 0,05		0
nach	0,25 + 0,05		k.	nach dem	0,25 + 0,05		0	mit Meerschweinchenblut	0,25 + 0,05		0
NaCl	0,1 + 0,05		k.	mit Hammelblut	0,1 + 0,05		deutl.	beh. Serum	0,1 + 0,05		0
	0,05 + 0,05		k.	beh. Serum	0,05 + 0,05		f. k.		0,05 + 0,05		f. k.

Wir konnten also auf Grund unserer Versuche keinen Anhaltspunkt dafür finden, daß durch die verschiedenartige Behandlung von normalen Seren in diesen neue Stoffe entstanden sind, die eine Komplementbindung im Sinne der Wassermannschen Reaktion geben. Wir konnten vielmehr zeigen, daß die Stoffe, die komplementbindend wirken, bereits in den unveränderten normalen Seren vorhanden sind, jedoch durch antagonistische Stoffe verdeckt werden. Die das Serum verändernden Eingriffe beeinflussen dasselbe derart, daß sie die Wirkung der antagonistischen Stoffe ausschalten; sie bedingen jedoch keine Vermehrung der komplementbindenden Stoffe der normalen Sera, denn diese finden sich in unveränderten Seren, die keine Komplementbindung geben, quantitativ in derselben Menge wie in jenen, in denen die komplementbindende Fähigkeit durch Behandlung erzeugt wurde. Die luetischen Sera jedoch weisen diese Stoffe in quantitativ vermehrter Menge auf und in einer hitzebeständigen Modifikation. So stehen also diese zu denen der normalen Sera in derselben Beziehung wie normale Antikörper zu Immun-Antikörpern. Wir glauben demnach nicht, daß durch die Versuche jener Autoren, die in normalen Seris die Wassermannsche Reaktion erzeugt haben, die Antikörpernatur der komplementbindenden Stoffe luetischer Sera irgendwie angezweifelt werden kann.

Versuch 10.

Dieselben Versuche wiederholt. Behandlung der Normalsera a und b mit Hammelblut und Meerschweinchenblut, sowie nachträglich mit Leber, genau wie im vorigen Versuch.

	Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat		Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat
Luesserum	0,2 + 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 Kpl. und nach 1 St. 3fach sensib. Hammelblut	0	Normal-serum b	0,2 + 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 Kpl. und nach 1 St. 1 ccm 5%, 3fach sensibl. Hammelblut	k.
	0,1 + 0,2		0		0,1 + 0,2		k.
	NaCl				NaCl		
	0,2 + 0,2		k.		0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		k.
	Extr.			Dasselbe, mit Meerschweinchenblut behandelt	Extr.		
Normal-serum a	0,2 + 0,2		k.		0,2 + 0,2		0
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		0
	NaCl				NaCl		
	0,2 + 0,2		k.		0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		k.
	Extr.						
Dasselbe, mit Hammel blut behandelt	0,2 + 0,2		0				
	0,1 + 0,2		0				
	NaCl						
	0,2 + 0,2		k.				
	0,1 + 0,2		k.				

Dieselben Sera nach der Behandlung mit Leber:

	Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat		Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat
Luesserum	0,2 + 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 Kpl., nach 1 St. je 1 ccm 5%, 3fach sensib. Hammelbl.	st.	Normal-serum b	0,2 + 0,2	Zu jed. Röhrch. 0,05 Kpl., nach 1 St. bei 37° je 1 ccm 5%, 3fach sensib. Hammelbl.	k.
	0,1 + 0,2		deutl.		0,1 + 0,2		k.
	NaCl				NaCl		
	0,2 + 0,2		k.		0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		k.
	Extr.				Extr.		
Normal-serum a	0,2 + 0,2		f. k.	Dasselbe, vorher mit Meerschw.-Blut behandelt	0,2 + 0,2		f. k.
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		k.
	NaCl				NaCl		
	0,2 + 0,2		k.		0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		k.
	Extr.				Extr.		
Dasselbe, vorher mit Hammel-blut behandelt	0,2 + 0,2		deutl.	NaCl nach Behandlung mit Leber	0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		deutl.		0,1 + 0,2		k.
	NaCl				NaCl		
	0,2 + 0,2		k.		0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		k.

Die auf Komplementbindung geprüften Lebersätze nach der Behandlung der Sera:

	Dosen + Kpl. ccm ccm		Resultat		Dosen + Kpl. ccm ccm		Resultat		Dosen + Kpl. ccm ccm		Resultat
Satz nach Lues-serum	0,5 + 0,05	Nach 1 St. bei 37° je 1 ccm 5%, 3fach sensib. Hammelbl.	0	Nach Normal-serum a	0,5 + 0,05	Nach 1 St. bei 37° je 1 ccm 5%, 3fach sensib. Hammelbl.	0	Nach Normal-serum b	0,5 + 0,05	Nach 1 St. bei 37° je 1 ccm 5%, 3fach sensib. Hammelbl.	0
	0,25 + 0,05		0		0,25 + 0,05		0		0,25 + 0,05		0
	0,1 + 0,05		0		0,1 + 0,05		k.		0,1 + 0,05		0
	0,05 + 0,05		0		0,05 + 0,05		k.		0,05 + 0,05		k.
Nach Behandlung mit NaCl	0,5 + 0,05		k.	Nach dem mit Hammelblut behand. Serum	0,5 + 0,05		0	Nach dem mit Meerschweinchenblut beh. Serum	0,5 + 0,05		0
	0,25 + 0,05		k.		0,25 + 0,05		0		0,25 + 0,05		0
	0,1 + 0,05		k.		0,1 + 0,05		k.		0,1 + 0,05		0
	0,05 + 0,05		k.		0,05 + 0,05		k.		0,05 + 0,05		k.

Versuch 11.

Ein aktives, nach Wassermann negatives Menschenserum wurde 4 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt, sodann auf Wassermannsche Reaktion geprüft.

	Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat		Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat
Normal-serum	0,2 + 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 Kpl., nach 1 St. je 1 ccm 5%, 3fach sensib. Hammelblut	k.	Lues-serum	0,2 + 0,2	0,05 Kpl., nach 1 St. 1 ccm 5%, 3fach sensib. Hammelbl.	0
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		0
	NaCl				NaCl		
	0,2 + 0,2		k.		0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		k.
Dasselbe Serum nach dem Schütteln	Extr.						
	0,2 + 0,2		0				
	0,1 + 0,2		0				
	NaCl						
	0,2 + 0,2		k.				
	0,1 + 0,2		k.				

Dieselben Sera nach der Behandlung mit Leber:

	Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat		Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat
Normal-serum	0,2 + 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 Kpl., nach 1 St. bei 37° 1 ccm 5%, 3fach sensib. Hammelblut	k.	Lues-serum	0,2 + 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 Kpl., nach 1 St. 1 ccm 5%, 3fach sensib. Hammelblut	deutl.
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		deutl.
	NaCl				NaCl		
	0,2 + 0,2		k.		0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		k.
Dasselbe, das vorher durch Schütteln beh. wurde	Extr.			NaCl nach der Behandlung mit Leber	Extr.		
	0,2 + 0,2		Sp.		0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		deutl.		0,1 + 0,2		k.
	NaCl				NaCl		
	0,2 + 0,2		k.		0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		k.

Die auf Komplementbindung geprüften Lebersätze nach der Behandlung der Sera:

	Dosen + Kpl. ccm ccm		Resultat		Dosen + Kpl. ccm ccm		Resultat
Nach Luesserum	0,5 + 0,05	Nach 1 St. je 1 ccm 5%, 3fach sensibil. Hammelblut	0	Nach Normalserum	0,5 + 0,05	Nach 1 St. bei 37° je 1 ccm 5%, 3fach sensib. Hammelblut	0
	0,25 + 0,05		0		0,25 + 0,05		0
	0,1 + 0,05		0		0,1 + 0,05		k.
	0,05 + 0,05		Sp.		0,05 + 0,05		k.
Nach NaCl	0,5 + 0,05		k.	Nach dem geschüttelten Serum	0,5 + 0,05		0
	0,25 + 0,05		k.		0,25 + 0,05		0
	0,1 + 0,05		k.		0,1 + 0,05		k.
	0,05 + 0,05		k.		0,05 + 0,05		k.

Versuch 12.

Derselbe Versuch wiederholt, genau wie der vorhergehende. Diesmal aber wurde das Serum nur 1 Stunde geschüttelt, mit demselben Resultat.

	Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat		Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat
Normalserum	0,2 + 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 Kpl., nach 1 St. bei 37° je 1 ccm 5%, 3fach sensibil. Hammelblut	k.	Luesserum	0,2 + 0,2	0,05 Kpl., nach 1 St. bei 37° je 1 ccm sensib. Hammelblut	0
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		0
	NaCl				NaCl		
	0,2 + 0,2		k.		0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		k.
	Extr.						
Serum 1 Stunde geschüttelt	0,2 + 0,2		0				
	0,1 + 0,2		0				
	NaCl						
	0,2 + 0,2		k.				
	0,1 + 0,2		k.				

Dieselben Sera nach der Behandlung mit Leber:

	Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat		Dosen + Extr. ccm ccm		Resultat
Normalserum	0,2 + 0,2	Zu jedem Röhrchen 0,05 Kpl., nach 1 St. bei 37° je 1 ccm 5%, 3fach sensibil. Hammelblut	k.	Luesserum	0,2 + 0,2	0,05 Kpl., nach 1 St. je 1 ccm 5%, 3fach sensib. Hammelblut	st.
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		st.
	NaCl				NaCl		
	0,2 + 0,2		k.		0,2 + 0,2		0
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		0
	Extr.				Extr.		
Serum geschüttelt	0,2 + 0,2		f. k.	NaCl nach der Behandlung mit Leber	0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		f. k.		0,1 + 0,2		k.
	NaCl				NaCl		
	0,2 + 0,2		k.		0,2 + 0,2		k.
	0,1 + 0,2		k.		0,1 + 0,2		k.

Die auf Komplementbindung geprüften Lebersätze nach der Behandlung der Sera:

	Dosen + Kpl. ccm ccm		Resultat		Dosen + Kpl. ccm ccm		Resultat
Lebersatz	0,5 + 0,05	Nach 1 St. bei 37° je 1 ccm 5%, 3fach sensib. Hammelblut	0	Nach dem	0,5 + 0,05	Nach 1 St. bei 37° je 1 ccm 5%, 3fach sensib. Hammelblut	0
nach	0,25 + 0,05		0	Normal-	0,25 + 0,05		0
Luesserum	0,1 + 0,05		0	serum	0,1 + 0,05		k.
	0,05 + 0,05		Sp.		0,05 + 0,05		k.
Nach	0,5 + 0,05		k.	Nach dem	0,5 + 0,05		0
Behandlung	0,25 + 0,05		k.	geschüttel-	0,25 + 0,05		0
mit NaCl	0,1 + 0,05		k.	ten Serum	0,1 + 0,05		k.
	0,05 + 0,05		k.		0,05 + 0,05		k.

Untersuchungen über die 3. Komponente des Komplementes.

Von

Margarete Thorsch.

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 22. August 1914.)

Als durch die Kobragiftinaktivierung des Komplements neben dem Mittel- und Endstück eine 3. Komponente entdeckt wurde [Sachs und Omorokow[1]), Ritz[2])], die sich durch ihre Hitzebeständigkeit leicht darstellen ließ, wurden die Beziehungen derselben sowohl zu den übrigen Anteilen des Komplements als insbesondere zu den sensibilisierten Blutkörperchen genauer untersucht. Zunächst konnte Ritz[2]) den Nachweis erbringen, daß die isolierte 3. Komponente auch von sehr stark sensibilisierten Blutkörperchen nicht gebunden wird. Da jedoch dieser Befund nichts Auffälliges hatte — zumal ja die 3. Komponente nach den Vorstellungen vom Bau des Komplements an das Mittel- oder Endstück oder erst an beide vereint angreifen konnte — hat Weil[3]) das Gesamtkomplement auf sensibilisierte Blutkörperchen wirken lassen, um nach der Hämolyse die 3. Komponente zu untersuchen. Es ergab sich, daß ein durch die Hämolyse bedingter Verbrauch der 3. Komponente nicht zu konstatieren war, daß ein solcher — wenn er vorhanden war — nur auf sekundäre Prozesse bezogen werden konnte. Nathan[4]) hat dann sensibilisierte Blutkörperchen mit Kobraserum, also Mittel- + Endstück, behandelt und auf diese, von ihm als „hypersensibilisiert" bezeichnete Blutkörperchen die 3. Komponente in der Kälte — um die Hämolyse zu verhindern — einwirken lassen. Eine Bindung konnte

[1]) Zeitschr. f. Immunit. 11.
[2]) Zeitschr. f. Immunit. 13.
[3]) Diese Zeitschr. 48, H. 5.
[4]) Zeitschr. f. Immunit. 21.

er nicht feststellen, auch wenn er das Blut mit 50 lösenden Dosen sensibilisiert hatte. Alle diese Umstände weisen darauf hin, daß die 3. Komponente des Komplements jenen Bestandteil darstellt, bei dem leicht der Nachweis gelingt, daß ein biologisch wirksamer Stoff seine Funktion ausüben kann, ohne weder durch Bindung in den Prozeß einzugreifen, noch überhaupt verbraucht zu werden. Da sich diese Tatsache mit den gegenwärtigen Anschauungen nicht vereinbaren läßt, gewann diese Frage eine um so größere Wichtigkeit, und wir haben eine Reihe von Versuchen angestellt, die sich in dieser Richtung bewegen. Es kam uns vor allem auf die Feststellung an, daß die 3. Komponente auch nach der Hämolyse durch das Gesamtkomplement noch quantitativ nachgewiesen werden kann. Durch Versuche von Jonas[1]) wissen wir, daß das Schweineserum die 3. Komponente in besonders reichem Maße enthält; da dieses Serum außerdem reichlich Normalhämolysine, insbesondere gegen Hammelblut und Meerschweinchenblut, aufweist, erschien es für unsere Untersuchungen geeignet. Wir gingen so vor, daß wir Hammelblut, resp. Meerschweinchenblut durch Schweineserum auflösen ließen und hierauf die 3. Komponente untersuchten resp. einen Verbrauch derselben feststellten. Wir haben in den meisten Versuchen auch Meerschweinchenserum, nach der Auflösung von sensibilisierten Hammelblutkörperchen, parallel mit untersucht. Unsere jetzigen Versuche unterschieden sich von den oben erwähnten Experimenten Weils dadurch, daß wir nicht das Schweineserum als Komplement, sondern als Gesamthämolysin (Amboceptor + Komplement) benutzen, und da war es von besonderem Interesse zu prüfen, ob unter diesen Bedingungen — wo also das Komplement mit dem eigenen Amboceptor zusammen wirkt — ein Verlust an 3. Komponente durch die Hämolyse zu konstatieren war.

Die Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt. Je 1 ccm gewaschener 5 $^0/_0$ iger Blutkörperchenaufschwemmung wurde mit absteigenden Mengen von Schweineserum (0,2, 0,1, 0,05, 0,025) versetzt und die Hämolyse im Wasserbade bei 40° beobachtet. Jenes Röhrchen, bei dem innerhalb 15 Minuten noch komplette oder fast komplette Hämolyse eingetreten war, wurde dann $^1/_2$ Stunde auf 55° erhitzt, gleichzeitig mit der-

[1]) Zeitschr. f. Immunit. 17.

selben Menge nativen Schweineserums. Auf dieselbe Weise ließen wir Meerschweinchenserum auf 3 fach sensibilisierte Hammelblutkörperchen einwirken, das wir dann ebenfalls im Wasserbad behufs Darstellung der 3. Komponente erhitzten.

Versuch I.

I. 1 ccm 5 % Meerschweinchenblutkörperch. + 0,2 Schweineserum. (Nach 15 Minuten komplett gelöst.) } 30 Minuten in ein Wasserbad von 55°.

II. 1 ccm NaCl + 0,2 ccm Schweineserum — 30 Minuten in 55°.

III. 1 ccm 3 fach sensibilisierte Hammelblutkörp. + 0,2 ccm Meerschweinchenserum. (Nach 15 Minuten in 40° komplett gelöst.) } 15 Minuten in 55°.

IV. 1 ccm NaCl + 0,1 ccm Meerschweinchenserum. } 15 Minuten in 55°.

Von allen 4 Röhrchen werden folgende Verdünnungen angesetzt.

Röhrch. I + ccm	Kobraser. + ccm	10fach sensib. Hammelblkp. ccm	Resultat	Resultat von Röhrchen II	Resultat von Röhrchen III, behandelt wie Röhrchen I	Resultat von Röhrchen IV	0,5 Kobraserum + 1 ccm 10fach sensib. Hammelblut als Kontrolle
0,1	0,5	1	k.	k.	f. k.	f. k.	0
0,05	0,5	1	k.	k.	st.	st.	
0,025	0,5	1	k.	k.	m.	m.	
0,01	0,5	1	s. st.	s. st.	Sp.	Sp.	
0,005	0,5	1	m.	m.	0	0	
0,001	0,5	1	Sp.	Sp.	0	0	
0,0005	0,5	1	0	0	0	0	

Zeichenerklärung:
k. = komplette Lösung,
f. k. = fast komplette Lösung,
w. = wenig Lösung,
Sp. = Spur Lösung,
0 = keine Lösung.

Versuch 2.

Das Meerschweinchenblut wurde vor der Behandlung zweimal gewaschen.

I. 1 ccm 5 % Meerschweinchenblutkörperch. + 0,05 ccm Schweineserum. (Nach 15 Minuten in 40° komplett gelöst.) } 30 Minuten in 55°.

II. 1 ccm NaCl + 0,05 Schweineserum. — 30 Minuten in 55°.

III. 1 ccm 3fach sensibilisierte Hammelblutkörp. + 0,2 ccm Meerschweinchenserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplett gelöst.) } 15 Minuten in 55°.

IV. 1 ccm NaCl + 0,1 ccm Meerschweinchenserum. } 15 Minuten in 55°.

Von allen 4 Röhrchen werden folgende Verdünnungen angesetzt.

Röhrch. I ccm	+ Kobraser. ccm	+ 10fach sensib. Hammelblkp. ccm	Resultat	Resultat von Röhrchen II, behandelt wie Röhrchen I	Resultat von Röhrchen III, behandelt wie Röhrchen I	Resultat von Röhrchen IV	0,5 ccm Kobraser. + 1 ccm 10facm sensib. HBlut
0,1	0,5	1	k.	k.	k.	k.	0
0,05	0,5	1	k.	k.	f. k.	f. k.	
0,025	0,5	1	k.	k.	st.	st.	
0,01	0,5	1	k.	k.	w.	w.	
0,005	0,5	1	st.	st.	Sp.	Sp.	
0,001	0,5	1	Sp.	0	0	0	
0,0005	0,5	1	Sp.	0	0	0	

Versuch 3.

I. 1 ccm 5% Meerschweinchenblutkörperch. + 0,2 ccm Schweineserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplett gelöst.) } 30 Minuten in 55°.

II. 1 ccm NaCl + 0,2 Schweineserum. 30 Minuten in 55°.

III. 1 ccm 3 fach sensibilisierte Hammelblutkörp. + 0,2 ccm Meerschweinchenserum. (Nach 15 Minuten in 40° komplett gelöst.) } 15 Minuten in 55°.

IV. 1 ccm NaCl + 0,1 ccm Meerschweinchenserum. } 15 Minuten in 55°.

Von allen 4 Röhrchen werden folgende Verdünnungen angesetzt.

Röhrch. I ccm	+ Kobraser. ccm	+ 10fach sensib. Hammelblkp. ccm	Resultat	Resultat von Röhrchen II, behandelt wie Röhrchen I
0,1	0,5	1	k.	k.
0,05	0,5	1	k.	k.
0,025	0,5	1	f. k.	f. k.
0,01	0,5	1	st.	s. st.
0,005	0,5	1	Sp.	st.
0,001	0,5	1	0	0
0,0005	0,5	1	0	0

Röhrch. III ccm	+ Kobraser. ccm	+ 10fach sensib. Hammelbl. ccm	Resultat	Resultat von Röhrchen IV	0,5 Kobraser. + 1 ccm sensib. HBl.
0,3	0,5	1	k.	k.	0
0,2	0,5	1	k.	k.	
0,1	0,5	1	k.	k.	
0,05	0,5	1	st.	f. k.	
0,025	0,5	1	Sp.	st.	
0,001	0,5	1	Sp.	0	
0,0005	0,5	1	0	0	

Aus diesen Versuchen geht eindeutig hervor, daß, ebensowenig wie das Meerschweinchenserum, das Schweineserum in seiner 3. Komponente durch den Prozeß der Hämolyse verändert wird, obwohl dieses durch die Vermittlung des Normalamboceptors als Normalhämolysin die Blutkörperchen gelöst hat. Wir hahen in einem weiteren Versuch auch Rinderserum, das Meerschweinchenblutkörperchen ebenfalls stark löst, untersucht.

Versuch 4.

I. 1 ccm 5 % Meerschweinchenblutkörperch. + 0,05 ccm Rinderserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplette Lösung.) } 30 Minuten in ein Wasserbad von 55°.

II. 1 ccm NaCl + 0,05 ccm Rinderserum. 30 Min. bei 55°.

III. 1 ccm 3fach sensibilisierte Hammelblutkörp. + 0,2 ccm Meerschweinchenserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplette Lösung.) } 15 Min. bei 55°.

IV. 1 ccm NaCl + 0,1 ccm Meerschweinchenserum. } 15 Min. bei 55°.

Von allen 4 Röhrchen werden folgende Verdünnungen angesetzt.

Röhrch. I ccm	+ Kobraser. ccm	+ 10fach sensib. Hammelblkp. ccm	Resultat	Resultat von Röhrchen II, behandelt wie Röhrchen I	Resultat von Röhrchen III, behandelt wie Röhrchen I	Resultat von Röhrchen IV	0,5 ccm Kobraser. + 1 ccm 10fach sensib. HBl.
0,1	0,5	1	k.	k.	k.	f. k.	0
0,05	0,5	1	f. k.	f. k.	s. st.—f. k.	st.	
0,025	0,5	1	st.	w.	m.	m.	
0,01	0,5	1	Sp.	Sp.	Sp.	Sp.	
0,005	0,5	1	0	0	0	0	
0,001	0,5	1	0	0	0	0	
0,0005	0,5	1	0	0	0	0	

Auch dieser Versuch zeigt genau dasselbe Resultat, wie die im vorangehenden mitgeteilten.

Um die Reaktion empfindlicher zu gestalten, haben wir — um die Wirkung der 3. Komponente zu prüfen — statt 10fach nur 5fach sensibilisierte Blutkörperchen zugesetzt.

Versuch 5.

Das Meerschweinchenblut wurde vor der Behandlung zweimal gewaschen.

I. 1 ccm 5 % Meerschweinchenblutkörperch. + 0,05 ccm Schweineserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplette Lösung.) } 30 Min. bei 55°.

II. 1 ccm NaCl + 0, 05 Schweineserum. 30 Min. bei 55°.

III. 1 ccm 2fach sensibilisierte Hammelblutkörp. + 0,2 ccm Meerschweinchenserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplette Lösung.) } 15 Min. bei 55°.

IV. 1 ccm NaCl + 0,1 ccm Meerschweinchenserum. } 15 Min. bei 55°.

Von allen 4 Röhrchen werden folgende Verdünnungen angesetzt.

Röhrch. I ccm	+ Kobraser. ccm	+ 5fach sensib. Hammelblkp. ccm	Resultat	Resultat von Röhrchen II, behandelt wie Röhrchen I	Resultat von Röhrchen III	Resultat von Röhrchen IV	0,5 ccm Kobraser. + 1 ccm 5fach sensib. HBl.
0,5	0,5	1	k.	k.	k.	k.	0
0,25	0,5	1	k.	k.	k.	k.	
0,1	0,5	1	k.	k.	k.	f. k.	
0,05	0,5	1	k.	k.	st.	m.	
0,025	0,5	1	k.	k.	m.	w.	
0,01	0,5	1	f. k.	k.	Sp.	0	
0,005	0,5	1	f. k.	f. k.	0	0	
0,001	0,5	1	w.	w.	0	0	

Auch dieser Versuch unterscheidet sich nicht von den vorangehenden. Eine Erweiterung dieses Experiments bilden die folgenden Versuche, in denen wir als Indicator für den Nachweis der 3. Komponente 2 fach, 5 fach und 10 fach sensibilisierte Blutkörperchen auflösen ließen. Außerdem hat hier das Schweineserum nicht Meerschweinchenblutkörperchen, sondern Hammelblutkörperchen gelöst, weil es immerhin möglich wäre, daß bei Auflösung der homologen Blutart infolge Eingreifens des normalen Amboceptors, der ja eine sekundäre Bindung veranlassen kann, ein Verbrauch der 3. Komponente nachgewiesen werden könnte.

Versuch 6.

I. 1 ccm 5% Meerschweinchenblutkörperchen + 0,1 ccm Schweineserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplette Lösung.)

II. 1 ccm 5% Hammelblutkörp. + 0,1 ccm Schweineserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplette Lösung.)

III. 1 ccm NaCl + 0,1 ccm Schweineserum.

} 30 Minuten in 55°.

Von allen 3 Röhrchen werden folgende Verdünnungen angesetzt.

Röhrch. I + Kobraser. + 10fach sensib. Hammelblkp. ccm	ccm	ccm	Resultat	Resultat von Röhrchen II, behandelt wie Röhrchen I
0,1	0,5	1	k.	k.
0,05	0,5	1	k.	k.
0,025	0,5	1	k.	k.
0,01	0,5	1	k.	k.
0,005	0,5	1	f. k.	f. k.
0,001	0,5	1	s. st.	w.
0,0005	0,5	1	st.	Sp.

Röhrch. III + Kobraser. + 10fach sensib. Hammelbl. ccm	ccm	ccm	Resultat	0,5 ccm Kobraser. + 1 ccm 10fach sensib. HBl.
0,1	0,5	1	k.	0
0,05	0,5	1	k.	
0,025	0,5	1	k.	
0,01	0,5	1	k.	
0,005	0,5	1	f. k.	
0,001	0,5	1	m.	
0,0005	0,5	1	Sp.	

Versuch 7.

I. 1 ccm 5 % Meerschweinchenblutkörperchen + 0,1 ccm Schweineserum. (Nach 15 Minuten in 40° komplette Lösung.)
II. 1 ccm 5 % Hammelblutkörp. + 0,1 ccm Schweineserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplette Lösung.)
III. 1 ccm NaCl + 0,1 ccm Schweineserum.

} 30 Min. bei 55°.

Von allen 3 Röhrchen werden folgende Verdünnungen angesetzt.

Röhrch. I + Kobraser. + 10fach sensib. Hammelblkp. ccm	ccm	ccm	Resultat	Resultat von Röhrchen II, behandelt wie Röhrchen I
0,1	0,5	1	k.	k.
0,05	0,5	1	k.	k.
0,025	0,5	1	k.	k.
0,01	0,5	1	k.	k.
0,005	0,5	1	st.	m.—st.
0,001	0,5	1	0	0
0,0005	0,5	1	0	0

Röhrch. III + Kobraser. + 10fach sensib. Hammelblkp.			Resultat	0,5 ccm Kobraser. + 1 ccm sens. HBl.
ccm	ccm	ccm		
0,1	0,5	1	k.	0
0,05	0,5	1	k.	
0,025	0,5	1	k.	
0,01	0,5	1	k.	
0,005	0,5	1	st.	
0,001	0,5	1	0	
0,0005	0,5	1	0	

Versuch 8.

I. 1 ccm 5% Hammelblutkörp. + 0,1 ccm Schweineserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplette Lösung.)
II. 1 ccm NaCl + 0,1 ccm Schweineserum.
III. 1 ccm 3 fach sensibilisierte Hammelblutkörp. + 0,2 ccm Meerschweinchenserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplette Lösung.)
IV. 1 ccm NaCl + 0,1 ccm Meerschweinchenserum.

} 30 Min. bei 55°.

Von allen 4 Röhrchen werden folgende Verdünnungen angesetzt.

Röhrch. I + Kobraser. + 2 fach sensib. Hammelblkp.			Resultat	Resultat von Röhrchen II	Resultat von Röhrchen III	Resultat von Röhrchen IV	0,5 ccm Kobraser. + 1 ccm 5 fach sensib. HBl.
ccm	ccm	ccm					
0,1	0,5	1	f. k.	f. k.	w.	w.	0
0,05	0,5	1	st.	st.	Sp.	Sp.	
0,025	0,5	1	Sp.	0	0	0	
0,01	0,5	1	0	0	0	0	
0,005	0,5	1	0	0	0	0	
0,001	0,5	1	0	0	0	0	
0,0005	0,5	1	0	0	0	0	

Röhrch. I + Kobraser. + 5 fach sensib. Hammelblkp.			Resultat	Resultat von Röhrchen II	Resultat von Röhrchen III	Resultat von Röhrchen IV	0,5 ccm Kobraser. + 1 ccm 5 fach sensib. HBl.
ccm	ccm	ccm					
0,1	0,5	1	k.	k.	f. k.	f. k.	0
0,05	0,5	1	k.	k.	m.	m.	
0,025	0,5	1	k.	k.	Sp.	w.	
0,01	0,5	1	k.	f. k.	0	Sp.	
0,005	0,5	1	k.	st.	0	0	
0,001	0,5	1	m.	0	0	0	
0,0005	0,5	1	0	0	0	0	

Röhrch. I + ccm	Kobraser. + ccm	10fach sensib. Hammelblkp. ccm	Resultat	Resultat von Röhrchen II	Resultat von Röhrchen III	Resultat von Röhrchen IV	0,5 ccm Kobraser. + 1 ccm 10fach sensib. HBl.
0,1	0,5	1	k.	k.	k.	k.	0
0,05	0,5	1	k.	k.	f. k	f. k.	
0,025	0,5	1	k.	k.	st.	st.	
0,01	0,5	1	k.	k.	m.	m.	
0,005	0,5	1	k.	k.	0	0	
0,001	0,5	1	m.	m.	0	0	
0,0005	0,5	1	0	m.	0	0	

Wir sehen, daß jedoch auch unter diesen Bedingungen die 3. Komponente quantitativ intakt erhalten bleibt und daß weiter die Empfindlichkeit der Reaktion — wie vorauszusehen war — mit der Stärke der Sensibilisierung zunimmt.

Schließlich haben wir noch einen Versuch angestellt, in dem wir nicht die 3. Komponente, sondern die Menge des Kobragiftes variierten.

Versuch 9.

I. 1 ccm 5 % Hammelblutkörp. + 0,05 ccm Schweineserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplette Lösung.)
II. 1 ccm NaCl + 0,05 ccm Schweineserum.
III. 1 ccm 3fach sensib. Hammelblutkörperchen + 0,4 ccm Meerschweinchenserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplette Lösung.)
IV. 1 ccm NaCl + 0,2 ccm Meerschweinchenserum.

} 30 Min. bei 55°.

Röhrch. I + ccm	Kobraser. + ccm	10fach sensib. Hammelblkp. ccm	Resultat	Resultat von Röhrchen II, behandelt wie Röhrchen I	Resultat von Röhrchen III	Resultat von Röhrchen IV	0,5 ccm Kobraserum +1ccm 10fach sensib. HBl.
0,05	2,5	1	k.	k.	k.	k.	0
0,05	2,0	1	k.	k.	f. k.	f. k.	
0,05	1,0	1	k.	k.	st.	st.	
0,05	0,5	1	Sp.	Sp.	w.	w.	
0,05	0,25	1	0	0	Sp.	Sp.	
0,05	0,1	1	0	0	0	0	
0,05	0,05	1	0	0	0	0	

Auch unter diesen Bedingungen ist ein Verbrauch der 3. Komponente nicht zu konstatieren.

Weitere Versuche wurden mit hämolytischen Immunseris, die von Meerschweinchen stammten, angestellt. Es hatte näm-

lich nach den Ermittlungen von Weil[1]) den Anschein, als ob das Mittel- + Endstück von dem Meerschweinchenhämolysin stärker gebunden würde als von dem des Kaninchens, und es wäre möglich, daß sich dies auch auf die 3. Komponente bezieht.

Versuch 10.

Bei diesem Versuche wurden die Hammelblutkörperchen sowohl mit Kaninchenamboceptor als auch mit 2 Meerschweinchenimmunsera sensibilisiert.

I. 1 ccm 5% 2fach sensib. Hammelblutkörp. (Kaninchenamboceptor) + 0,2 ccm Meerschweinchenserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplette Lösung.)
II. 1 ccm 5% 2fach sensib. Hammelblutkörp. (Meerschweinchenimmunserum I) + 0,2 ccm Meerschweinchenserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplette Lösung.)
III. 1 ccm 5% 2fach sensib. Hammelblutkörp. (Meerschweinchenimmunserum II) + 0,2 ccm Meerschweinchenserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplette Lösung.)
IV. 1 ccm NaCl + 0,1 ccm Meerschweinchenserum.

} 30 Min. bei 55°.

Von allen 3 Röhrchen werden folgende Verdünnungen angesetzt.

Röhrch. I ccm	+ Kobraser. ccm	+ 10fach sensib. Hammelblkp. ccm	Resultat	Resultat von Röhrchen II, behandelt wie Röhrchen I	Resultat von Röhrchen III	Resultat von Röhrchen IV	0,5 ccm Kobraserum + 1 ccm 10fach sensib. HBl.
0,25	0,5	1	f. k.	f. k.	k.	f. k.	0
0,2	0,5	1	f. k.	f. k.	k.	f. k.	
0,1	0,5	1	st.	st.	f. k.	st.	
0,05	0,5	1	w.	w.	w.	w.	
0,025	0,5	1	Sp.	Sp.	Sp.	Sp.	
0,01	0,5	1	0	0	0	0	
0,005	0,5	1	0	0	0	0	
0,001	0,5	1	0	0	0	0	
0,0005	0,5	1	0	0	0	0	

Versuch 11.

Bei diesem Versuche wurden die Hammelblutkörperchen sowohl mit Kaninchenamboceptor als auch mit 2 verschiedenen Meerschweinchenimmunsera sensibilisiert.

---

[1]) Diese Zeitschr. 65, Heft 3 u. 4.

I. 1 ccm 5 % 2fach sensib. Hammelblutkörp. (Kaninchenamboceptor) + 0,2 ccm Meerschweinchenserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplette Lösung.)
II. 1 ccm 5 % 2fach sensib. Hammelblutkörp. (Meerschweinchenimmunserum I) + 0,2 ccm Meerschweinchenserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplette Lösung.)
III. 1 ccm 5 % 2fach sensib. Hammelblutkörp. (Meerschweinchenimmunserum II) + 0,2 ccm Meerschweinchenserum. (Nach 15 Minuten bei 40° komplette Lösung.)
IV. 1 ccm NaCl + 0,1 ccm Meerschweinchenserum.

} 30 Min. bei 55°.

Von allen 3 Röhrchen werden folgende Verdünnungen angesetzt.

Röhrch. I ccm	+ Kobraser. ccm	+ 10fach sensib. Hammelblkp. ccm	Resultat	Resultat von Röhrchen II	Resultat von Röhrchen III	Resultat von Röhrchen IV	0,5 ccm Kobraserum +1 ccm 10fach sensib. HBl.
0,25	0,5	1	k.	k.	k.	k.	0
0,2	0,5	1	k.	k.	k.	k.	
0,1	0,5	1	k.	f. k.	k.	f. k.	
0,05	0,5	1	st.	f. k.	st.	st.	
0,025	0,5	1	st.	m.	m.	m.	
0,01	0,5	1	st.	m.	Sp.	m.	
0,005	0,5	1	Sp.	Sp.	Sp.	Sp.	
0,001	0,5	1	Sp.	Sp.	Sp.	0	
0,0005	0,5	1	Sp.	Sp.	Sp.	0	

Dies ist jedoch nach den im Vorangehenden mitgeteilten Versuchen nicht der Fall.

Das Gesamtresultat, das diese Versuche ergeben haben, besteht darin, daß die 3. Komponente des Komplementes nicht nur vom Meerschweinchenserum, sondern auch von anderen Seren, die nicht als Komplement, sondern als Normalhämolysin wirkten, nach der Hämolyse in der gleichen Menge nachgewiesen werden konnte, wie vor derselben. Eine Verminderung dieses Komplementanteils konnte nicht festgestellt werden, auch wenn die Versuchsanordnung in der verschiedensten Weise variiert wurde, um den Nachweis eines eventuellen Verbrauchs recht empfindlich zu gestalten. Diese Tatsache läßt sich mit der Auffassung, daß das Komplement im Sinne der Seitenkettentheorie wirkt, nicht erklären.

Über den Cholesterinstoffwechsel in einem Falle von angeborener hämolytischer Gelbsucht mit Splenomegalie.

Von

James P. Mc Kelvie, M. D. und Jacob Rosenbloom, M. D., Ph. D.

(Aus dem Allegheny Allgemeinen Krankenhaus und dem Laboratorium von Dr. James P. Mc Kelvie, Pittsburgh, Pa.)

(Eingegangen am 30. August 1914.)

Eines der charakteristischsten Symptome bei angeborener hämolytischer Gelbsucht, verbunden mit Splenomegalie, ist die geschwächte Resistenz der roten Blutkörperchen gegenüber hypotonischen Natriumchloridlösungen. Dieser zuerst von Chauffard[1]) erhobene Befund ist seitdem von vielen anderen Beobachtern[2]) bestätigt worden. Chauffard konnte feststellen, daß bei normalen Individuen die Hämolyse nach Zusatz einer 0,44 $^0/_0$igen Natriumchloridlösung einsetzte und bei 0,36 $^0/_0$ abgeschlossen war. Worauf dieser verringerte Widerstand der Erythrocyten beruht, ist bisher nie erklärt worden. In der vorliegenden Arbeit knüpfen wir im Anschluß an unsere Beobachtungen in bezug auf den Cholesterinstoffwechsel an einem Patienten mit kongenitaler hämolytischer Gelbsucht, verbunden mit Splenomegalie, eine Hypothese über den Mechanismus dieser geschwächten Resistenz der roten Blutkörperchen an.

---

[1]) Compt. rend. Soc. Biol. **54**, 1074, 1902.

[2]) Stejskal, Wiener klin. Wochenschr. **1909**, 1701. — Butler, Quart. Jr. Med. VI, 145, 1913. — Massaglia und Tarabina, Gazz. d. osp. e delle clin. Milano **29**, 778, 1908. — Pel, Arch. f. klin. Med. **106**, 239, 1912. — Maliwa, Deutsche med. Wochenschr. **39**, 154, 1913. — Roth, Arch. f. klin. Med. **106**, 137, 1912. — Cade, Bull. et Mem. Soc. med. d. hôp. de Paris **25**, 421, 1908. — Richards und Johnson, Journ. Amer. Med. Assoc. **61**, 1586, 1913.

Bei der Prüfung des osmotischen Widerstandes der roten Blutkörperchen dieses Patienten wurde dieselbe Technik angewandt, wie sie Richards und Johnson[1]) beschrieben haben. Aus den in nachstehender Tabelle zusammengestellten Resultaten geht hervor, daß die roten Blutkörperchen unseres Patienten Natriumchloridlösungen gegenüber weniger resistent waren, als es bei normalen der Fall ist.

Tabelle I.

	Stärke der Natriumchloridlösung in Prozenten											
	0,375	0,40	0,425	0,45	0,50	0,525	0,55	0,575	0,60	0,625	0,65	0,90
Ausgewasch. roteBlutkörp. des Patienten	+++++	+++++	+++++	++++	++++	++++	+++	+++	+++	++	+	0
Kontrolle (norm. Blutk.)	+	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Hier bedeutet: +++++ = vollständige Hämolyse;
++++ = mäßig starke "
+++ = geringe "
++ = sehr geringe "
+ = Spuren von "
0 = keine Spur von "

Während der exakt durchgeführten Stoffwechseluntersuchung wurde dem Patienten folgende Kost vorgeschrieben:

Vollmilch	300 ccm,
Sahne	150 ccm,
Horlicks Malzmilch	100 g,
Zucker	10 g,
Salz	4 g,
Butter	5 g,
Eier (ohne Schale)	240 g,
Wasser	1000 g.

Diese Diät enthält annähernd 60 g Eiweiß, 75 g Fett und 112 g Kohlenhydrat, im ganzen 1395 Cal. oder etwa 50 Cal.

[1]) l. c.

pro 1 kg Körpergewicht des Patienten. Die Milch, Sahne, Malzmilch, Zucker und Salz wurden täglich zusammengemischt und 1 Unze zur Cholesterinbestimmung, die an einem aliquoten Teil dieser täglichen Mischung gemacht wurde, entnommen. Auch der Cholesteringehalt der Butter und Eier wurde festgestellt, und zwar nach der Methode von Windaus[1]). Der Kot wurde mittels Karmin in Perioden von 5 Tagen abgegrenzt.

Tabelle II.

Cholesterinstoffwechsel.

Datum	Cholesterin-einnahme g	Cholesterin[2]) im Kot g	Bilanz g
10. bis 14. XII.	5,22	12,27	− 7,05

Da die verringerte Widerstandskraft der roten Blutkörperchen gegen Hämolyse ein hervorstechendes Merkmal dieses Zustandes ist und wir im Cholesterinabbau in dem von uns studierten Krankheitsfall eine Störung konstatieren konnten, ist es von Bedeutung, auf gewisse Hämolysenphasen näher einzugehen. Bekanntlich lösen sich, wenn jede Spur von Serum entfernt ist, die Körperchen bei Zusatz von Kobragift, Tetanustoxin, Solanin, Saponin usw. nicht auf. Wird dagegen das Serum von den Erythrocyten nicht entfernt, so erfolgt ihre vollständige Auflösung, wenn ein hämolytisches Agens hinzugefügt wird[3]).

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **42**, 238, 1909; Zeitschr. f. physiol. Chem. **65**, 110, 1910.

[2]) Die große Cholesterinmenge in den Faeces konnte mit bloßem Auge festgestellt werden.

[3]) Flexner und Noguchi, Journ. Exp. Med. **1902**, VI. — Kyes, Berl. klin. Wochenschr. **39**, 886, 1902; Zeitschr. f. physiol. Chem. **41**, 273, 1904; diese Zeitschr. **4**, 99, 1907; Journ. of Infect. Dis. **7**, 181, 1910. — Abderhalden und Le Count, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **2**, 199, 1905. — Hausmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **6**, 567, 1905. — Ransom, Deutsche med. Wochenschr. **1901**, 1904. — Pascucci, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **6**, 543, 1905. — Windaus, Ber. **42**, 238, 1909.

Der hier zugrunde liegende Mechanismus besteht darin, daß in dem Serum eine Substanz enthalten ist, welche die Tätigkeit des Hämolyticums auslöst. Im Laufe der Untersuchungen fanden wir, daß gewöhnliches Lecithin an Stelle des Blutserums dieselbe Funktion erfüllt. In demselben Maße, wie Lecithin die Wirkung einiger hämolytischer Agenzien beschleunigte, wurde sie durch Zusatz von Cholesterin gehemmt. Setzt man nämlich einer Suspension von roten Blutkörperchen mit Lecithin und gewissen auflösenden Substanzen Cholesterin hinzu, so bleibt die Hämolyse aus. Es ist nun wohl möglich, daß die hämolytische Gelbsucht in diesen Fällen auf die Tatsache zurückzuführen ist, daß durch eine Anomalie des Stoffwechsels der Cholesteringehalt des Blutserums vermindert ist. Infolgedessen ist nicht genug Cholesterin vorhanden, um durch seine antihämolytische Kraft die Hämolyse aufzuheben, die durch Aufsaugung verschiedener Stoffe aus dem Darm zustandekommen könnte.

Ist es nicht sehr wahrscheinlich, daß das Cholesterin im tierischen Organismus diese wichtige Funktion ausübt? Widal und Philibert gelang es nicht, im Serum ihrer Patienten hämolytische Wirkungskraft gegenüber ihren eigenen roten Blutkörperchen oder denen anderer nachzuweisen. Die große Empfindlichkeit der Erythrocyten, die in bezug auf hypotonische Salzlösungen besonders ausgeprägt ist, sprach sich auch gegenüber verschiedenen anderen hämolytischen Agenzien stark aus. Diese Befunde bekräftigen die von uns aufgestellte Theorie über die Rolle des Cholesterins im Blute.

In diesem Zusammenhang sei daran erinnert, daß es auf Grund der Versuche von Hausmann und von Abderhalden und Le Count feststeht, daß, während Cholesterin die Hämolysewirkung des Saponins hemmt, die Cholesterinester sie nicht einzudämmen vermögen.

Nach Vollendung dieser Arbeit erschien die Mitteilung von Medak[1]). Sie enthält Bestimmungen von Cholesterin und Cholesterinestern des Blutes in verschiedenen Krankheiten, die für uns von großem Interesse sind. Die folgenden Angaben sind der genannten Arbeit entnommen.

---

[1]) Diese Zeitschr. 59, 419, 1914.

Krankheit	Freies Cholesterin in 1000 ccm Blut g	Gebundenes Cholesterin in 1000 ccm Blut g	Gehalt an Gesamtcholesterin in 1000 ccm Blut g
Katarrhalischer Ikterus . . .	0,8377	0,4150	1,2527
Ikterus (mechan.)	1,3900	0,4917	1,8817
Ikterus (bei der Aufnahme) . .	1,8200	0,8856	2,7056
Ikterus (nach Schwund d. Ikterus)	1,2600	0,7190	1,9790
Perniziöse Anämie	1,7537	0,6560	1,4097
Anämie (tuberk.)	0,6887	0,3234	1,0121
Polycythämie (kardiale) . . .	1,0065	0,3310	1,3375
Polycythämie	1,0960	0,4640	1,5600
Hypertrophische Cirrhosis . .	0,4855	0,6360	1,1215
Cirrhosis	2,6040	1,0850	3,6890
Bantische Krankheit vor Splenektomie	0,9736	0,3480	1,3216
Bantische Krankheit nach Splenektomie	1,3980	0,7356	2,1336
Bantische Krankheit vor Splenektomie	0,9510	0,5470	1,4980
Bantische Krankheit nach Splenektomie	1,0720	0,7140	1,7860
Erworbener hämolyt. Ikterus (vor Splenektomie)	0,4910	0,6330	1,1240
Erworbener hämolyt. Ikterus (nach Splenektomie)	0,9560	0,3460	1,3020

Aus den hier aufgeführten analytischen Daten geht hervor, daß eine größere Menge freien Cholesterins sich im Blute vor Splenektomie bei hämolytischer Gelbsucht findet. Diese und die andere Tatsache, daß die Menge des ungebundenen Cholesterins im Blute in diesen Fällen vor der Operation viel geringer ist als in irgendeiner der übrigen untersuchten Krankheiten, spricht zugunsten unserer Anschauung, daß ein gewisser Zusammenhang zwischen der erhöhten Empfindlichkeit der roten Blutkörperchen, wie sie beim hämolytischen Ikterus zutage tritt, und dem Cholesteringehalt des Blutes wie auch der Splenomegalie besteht.

In enger Berührung mit diesen Fragen stehen die für uns interessanten Ergebnisse von Anichkov[1]). Bei seinen Untersuchungen fütterte er Kaninchen lange Zeit hindurch mit Cholesterin, das in Sonnenblumenöl aufgelöst war, und mit Eigelb. Die Milz und das Knochenmark wurden makroskopisch wie mikroskopisch und im Polarisationsmikroskop untersucht.

[1]) Beiträge z. pathol. Anat. 57, 201, 1913.

Es zeigte sich, daß die Milz hyperplastisch und mit Fetttröpfchen, welche die Merkmale der Cholesterinverbindungen aufwiesen, angefüllt war. Auch fanden sich isotropische neutrale Fette in den großen Zellen der Milzpulpa. Der Verfasser schließt nun, gestützt auf seine Befunde, daß diese experimentelle Cholesterinsteatose oder großzellige Splenomegalie viele Charakteristika mit der sogenannten Splenomegalie des Typus Gaucher gemeinsam hat. Die Veränderungen im Knochenmark entsprechen bis in die kleinsten Einzelheiten denen in der Milz. Liegt es nun nicht nahe, daran zu denken, da die roten Blutkörperchen eine beträchtliche Menge Cholesterin enthalten, daß die Milz dasjenige Organ ist, in dem die Erythrocyten in großer Zahl zerstört werden, so daß, wie in den Versuchen von Anichkov, Splenomegalie als Folgeerscheinung auftritt?

Fraser und Gardner[1]) beobachteten, daß die Sera der mit Cholesterin gefütterten Kaninchen eine hemmende Wirkung auf die Bluthämolyse durch Saponin ausüben. Bei unserem Patienten führt vielleicht das Unvermögen, das Cholesterin normal abzubauen, zu einem circulus vitiosus, da durch den Mangel an Cholesterin im Blute Hämolyse eintritt, die weiterhin die Ursache einer erhöhten Menge freien, im Organismus kreisenden, aber nicht im Serum zurückgehaltenen Cholesterins wird[2]).

Ferner ist von Chauffard, Laroche, Grigaut[3]) und von Obakewitch[4]) konstatiert worden, daß das Serum bei angeborenem hämolytischen Ikterus eine verminderte Cholesterinmenge enthält. Tatsachen, die ebenfalls beredt für die Gültigkeit unserer Erklärung der Krankheit zeugen[5]).

---

[1]) Proc. Roy. Soc. 81, B. 230, 1909.

[2]) Přibram, diese Zeitschr. 1, 413, 1906; Therap. Monatsh. 590, 1908. (Erörterung der Rolle des Cholesterins als Antagonist von hämolytischen Substanzen). — Kasomoto, ebenda 14, 407, 1908 beobachtete vermehrte Cholesterinausscheidung in der Galle nach Verabreichung von Giften, die eine intensive Zerstörung von roten Blutkörperchen bedingten.

[3]) Compt. rend. Soc. Biol. 70, 20, 1911; 74, 1093, 1913.

[4]) Russki Wratch XII, 1062, 1090, 1914.

[5]) Der Cholesteringehalt des Blutserums in verschiedenen Krankheiten wird ausführlich in folgenden Arbeiten behandelt: Mc Nee, Quart. Ir. Med. 1914, 221. — Grigaut, Le Cycle de la Cholesterinémie, Paris 1913.

Vielen Forschern[1]) ist es gelungen, den Cholesteringehalt des Blutes durch Fütterung mit Cholesterin oder Verabreichung einer an dieser Substanz reichen Diät zu erhöhen. Vor kurzem hat Lindborn[2]) sogar einen Patienten, der an blutigem Ikterus litt, mit Cholesteringaben behandelt.

Die vermehrte Cholesterinausscheidung ist möglicherweise auch der Grund für die heftigen abdominalen, an Gallenkolik erinnernden Schmerzen, die in diesem Zustande häufig auftreten. Diese Schmerzanfälle können durch vorhandene Gallensteine, die eine Folge des anormalen Cholesterinabbaues sind, bedingt sein. Gallensteine sind in 5 bis 6 Fällen von angeborener hämolytischer Gelbsucht, die zur Sektion gelangten, jedesmal in der Gallenblase gefunden worden.

---

[1]) Grigaut und L'Huillier, Compt. rend. Soc. Biol. 72, 304, 1912. — Lemoine und Gerard, Bull. et mem. Soc. méd. d. hôp. 1912, 931. — Henes, Arch. f. klin. Med. 111, 122, 1913. — Widal, Weill und Ladaut, Sem. méd. 32, 529, 1912.

[2]) Hygiea 76, 385, 1914.

Amboceptoren und Receptoren.
(Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Geschwulstimmunität.)
I. Mitteilung.

Von

J. Morgenroth und **R. Bieling.**

(Aus der bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 1. September 1914.)

Die folgenden Versuche, die wir mit Hilfe der aus der Gräfin Bose-Stiftung gewährten Mittel ausführen konnten, knüpfen an die wichtige Beobachtung von Forssman[1]) an, daß es gelingt, durch Immunisierung von Kaninchen mit Meerschweinchenorganen hämolytische Amboceptoren für Hammelblut zu erzeugen. Dieser Forssmansche Versuch beweist für die Vertreter der Ehrlichschen Receptorenlehre, daß eine partielle Receptorengemeinschaft zwischen den Organen des Meerschweinchens und den Blutkörperchen des Hammels besteht.

Wie bereits Forssman mitteilte, gelingt es mit allen von ihm untersuchten Meerschweinchenorganen, wie Niere, Nebenniere, Gehirn, Leber und Hoden, das Kaninchen zur Bildung von Hammelblutantikörpern anzuregen. Genau so wie diese Organzellen wirken nach Orudschiew[2]) das Serum, nach Friedberger und Poor[3]) der Urin und nach Spät[4]) die Leukocyten des Meerschweinchens. Dagegen enthalten die roten Blut-

---

[1]) Forssman, diese Zeitschr. 37, 78, 1911.

[2]) D. Orudschiew, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 16, 268, 1913.

[3]) Zit. bei E. Friedberger, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 18, 269, 1913.

[4]) Spät, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 21, 565, 1914.

körperchen kein Hammelblutantigen. Von weiteren Tieren, deren Organe gleich denen des Meerschweinchens wirken, konnten Forssman und Widén[1]) die Katze namhaft machen, deren Niere zum Versuch benutzt wurde. Doerr und Pick[2]) erzielten dann Amboceptoren vom Forssmanschen Typus beim Kaninchen mit Pferdeniere und -Urin, sowie mit Hühnerleber.

Schiff[3]) berichtet über ein Hammelhämolysin, das er beim Kaninchen durch Behandlung mit Schildkrötenmuskel erhielt.

Ob das von Rothacker[4]) beschriebene Kaninchenserum, das er durch Immunisierung mit Paratyphusbacillen und Gärtnerbacillen erhielt, hierher gehört, erscheint uns zweifelhaft, da es nach der Angabe des Autors zwar Hammelblut, nicht aber Ziegenblut löst, die sich sonst beide gegenüber den Forssmanschen Hämolysinen gleichartig verhalten.

Mit Ochsen- und Rattenorganen gelang dagegen Forssman die Herstellung von Hammelhämolysin beim Kaninchen nicht, ebensowenig wie Orudschiew[5]) mit den Kaninchenorganen selbst.

Diesen Angaben widerspricht Friedberger[6]), der in Gemeinschaft mit Schiff und Spiegelberg auch mit Rattenniere, sowie mit Kaninchenniere und -Lunge eine Steigerung des Hammelhämolysingehaltes des Kaninchenserums erzielt hat. Diese Erhöhung des Hammelbluttiters ist jedoch stets nur gering und bewegt sich vor allem innerhalb der Werte, die nach Friedbergers gleichzeitig mitgeteilten Versuchsergebnissen auch bei unbehandelten Tieren gelegentlich vorkommen. Man wird der Ansicht Friedbergers und Schiffs zustimmen müssen, die annehmen, daß es sich bei diesen Schwankungen um die Wirkung unspezifischer Reize handelt. Dagegen dürfte es nicht angehen, diese inkonstanten und geringen Ausschläge in Parallele zu setzen mit einem Forssmanschen Versuch,

---

1) Zit. bei J. Forssman l. c.

2) R. Doerr und R. Pick, diese Zeitschr. 50, 129, 1913.

3) F. Schiff, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 20, 336, 1914.

4) A. Rothacker, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 16, 491, 1913.

5) l. c.

6) E. Friedberger und F. Schiff, Berl. klin. Wochenschr. 50, 1557 u. 2328, 1913.

bei dem es gelingt, das Lösungsvermögen des Kaninchenserums für Hammelblut weit über die Norm zu steigern.

Unser Interesse richtete sich nun vor allem darauf, ob es möglich sei, so wie mit Organen des Tierkörpers, auch mit Tumoren Antikörper zu erzeugen.

Dieser Versuch schien uns in Hinblick auf die Frage der Geschwulstimmunität deshalb von besonderem Interesse, weil es einmal bis jetzt noch nicht gelungen ist, Tumorantikörper einwandfrei nachzuweisen, andererseits aber so die Möglichkeit gegeben war, den Receptorenapparat der Tumorzelle mit dem der Organzelle zu vergleichen und damit tiefer in die Probleme der Biologie der Geschwülste einzudringen.

Wir mußten deshalb versuchen, ob es möglich ist, mit den Organen eines Laboratoriumtieres, das sich mit einem Tumor infizieren läßt, Forssmansche Hämolysine zu erzielen. Dabei mußte nach den negativen Ergebnissen Forssmans von der Ratte abgesehen werden. Wir richteten demnach unser Augenmerk auf die weiße Maus. Trotz der nahen zoologischen Verwandtschaft zwischen Ratte und Maus gelang es uns, hier sowohl mit Niere wie mit einem Carcinomstamm D, den wir der Freundlichkeit des Herrn Prof. Lewin verdanken, spezifische Ziegenhämolysine im Kaninchen zu erzielen. Wir haben vor längerer Zeit über diese positiven Ergebnisse bereits kurz berichten können[1]). Nunmehr soll nach einer eingehenden Besprechung dieser Versuche vor allem auch an die Analyse der fraglichen Tumorsera herangegangen werden.

Inzwischen hat Friedberger auch mit einem Mäusesarcom Hammelhämolysin beim Kaninchen hervorgerufen.

Mit den Organen eines zweiten Tieres, bei dem verimpfbare Spontantumoren vorkommen, nämlich des Hundes, gelingt der gleiche Versuch, wie wir später zeigen werden. Doch haben wir mangels geeigneten Tumormaterials hier die aufgeworfenen Fragen nicht verfolgen können.

Wir berichten deshalb nunmehr im Zusammenhang über die Ergebnisse der Immunisierung von Kaninchen mit Mäuseorganen und dem erwähnten Mäusecarcinomstamm.

---

[1]) J. Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 50, 561, 1913 (Demonstration in der Berliner Med. Gesellsch.).

1. Immunisierung von Kaninchen mit Mäuseorganen und Mäusetumor.

Bei der Technik der Organimmunisierungen treten einige Schwierigkeiten hervor, die zunächst den Anschein erwecken, als ob die Grundlagen, soweit das Antigen in Betracht kommt, mit größeren Unsicherheiten behaftet wären, als dies bei der Gewinnung hämolytischer Amboceptoren durch Immunisierung mit Erythrocyten der Fall ist.

Abgesehen davon, daß ein ganz unberechenbarer Faktor der Variabilität durch die individuelle Reaktion des Versuchstieres gegeben ist, bleibt bei beiden Arten von Antigenen — Organzellen und Erythrocyten — zunächst die nämliche Unsicherheit wohl im gleichen Maße bestehen. Weder bezüglich der Erythrocyten noch der Organzellen kann man irgend etwas über denjenigen Faktor aussagen, der für den Erfolg der Immunisierung maßgebend ist, nämlich über die Menge und Beschaffenheit der Receptoren der Zellen.

Wenn bei der Immunisierung mit Blutkörperchen angegeben wird, daß die in einer bestimmten Blutmenge enthaltenen Erythrocyten verwendet wurden, so liegt hierin — ganz abgesehen von der unter Umständen sehr stark schwankenden Anzahl der Erythrocyten in der Volumeinheit — überhaupt kein quantitativer Ausdruck für das, worauf es hier allein ankommt, nämlich die Receptoren der Blutkörperchen. Dies ist nur dann der Fall, wenn zur selben Zeit verschiedene Mengen eines und desselben Blutes verwendet werden. Ob Qualität und Quantität der Receptoren bei verschiedenen Individuen, bei demselben Individuum zu verschiedenen Zeiten, ja bei Aufbewahrung des Blutes nicht wesentlichen Schwankungen, die für die Antigenfunktion in Betracht kommen, unterliegen, darüber ist man noch völlig im Unklaren.

Dieselbe Einschränkung, aber keineswegs in höherem Maße, gilt für die Funktion der Organzellen als Antigene, und es dürfte deshalb vorläufig keine Bedeutung haben, hier umständliche quantitative Methoden auszuarbeiten und durch zeitraubende Prozeduren die Verluste an Material auf ein Minimum zu reduzieren.

Dies hat um so weniger Zweck, als die Resorption resp. die Desintegration der Organzellen und damit das Freiwerden

der antigenen Receptoren wohl nach Umfang und zeitlichem Verlauf erheblich unregelmäßiger vor sich geht, als bei den Erythrocyten. Für das Verhalten der Erythrocyten nach intraperitonealer oder intravenöser Einverleibung sind bestimmte Normen festgestellt, die für die Organzellen bis jetzt fehlen.

Auf die Schwierigkeiten, die sich bei intraperitonealer Injektion von Organzellen durch mangelhafte Resorption des Materials ergeben, hat schon Forssman hingewiesen. Es verzögert sich hier häufig die Bildung der Antikörper. Forssman, der auch das erste Auftreten und das Erreichen des Maximums bei seinen Tieren zeitlich genau verfolgte, nahm an, daß diese Verzögerung daher komme, daß ein großer Teil des injizierten Materials nicht resorbiert, sondern in der Bauchhöhle abgekapselt aufgespeichert wird. In der Tat sahen wir auch bei der Sektion unserer Tiere, daß sich das intraperitoneal eingespritzte Zellmaterial zu Klumpen zusammengeballt hatte und von Fibrin eingehüllt zum Teil der Darmserosa anhaftete, hauptsächlich aber sich in größeren Mengen in der Excavatio rectouterina bzw. rectovesicalis angesammelt hatte. In welchem Maße dieser Vorgang die Bildung der Antikörper zurückhält, ist natürlich nicht zu überblicken. Ob hier allmählich Receptoren etwa in Lösung gehen, ist nicht festzustellen; möglicherweise fungiert nur ein kleiner Bruchteil des intraperitoneal injizierten Materials als Antigen.

Bei der intravenösen Injektion muß man in ähnlicher Weise mit unbekannten Faktoren rechnen, da auch hier über Ausmaß und zeitlichen Verlauf des Freiwerdens der Receptoren und über ihre antigene Funktion nichts bekannt ist.

Hier liegen Fragen vor, deren Bedeutung über die Versuchstechnik als solche hinausreicht und die der Aufklärung bedürfen. Die Geschwulstimmunisierung ist in hohem Maße von der rationellen Bearbeitung dieser Fragen abhängig. Erfolge und die weit zahlreicheren Mißerfolge lassen sich erst dann fruchtbringend analysieren, wenn die Vorgänge, die zwischen der Einführung receptoren- resp. antigenhaltiger Zellen und der Immunitätsreaktion liegen, wirklich bekannt sind, wozu bis jetzt so gut wie alles fehlt.

Die von den verschiedenen Untersuchern angewandte Immunisierungstechnik lehnt sich an Forssmans[1]) Angaben an. Dieser hatte die Organe in der Reibschale zerrieben, mit Kochsalz aufgeschwemmt und dann so viel von der Emulsion injiziert, als durch eine 1 mm dicke Kanüle hindurchging. Er empfahl, die Aufschwemmung des zerriebenen Organs durch ein doppeltes Preßtuch zu filtrieren. Hierdurch gelingt es, eine feine homogene Emulsion zu erhalten, die eine gleichmäßige Ver-

---

[1]) l. c.

teilung und bessere Dosierung gewährleistet. Doerr und Pick[1]) legten Wert darauf, die Organe vor dem Zerreiben möglichst blutfrei zu machen. Auf diese Weise soll es vermieden werden, daß durch die roten Blutkörperchen die Bildung von Hämolysinen angeregt wird, welche die Zusammensetzung des Serums unnötig komplizieren. Orudschiew[2]) befolgte die Angaben von Morgenroth und Rosenthal[3]) zur Herstellung von Organemulsion für Bindungsversuche. Er ließ die Organe durch eine Fleischhackmaschine gehen, um sie dann erst in der Reibschale zu zerreiben. Dieses Verfahren, das sicherlich zeitsparend und bequemer ist, hat vielleicht den Nachteil, daß viel Bindegewebe in die Aufschwemmung kommt, auch dann, wenn man durch ein Tuch preßt. Wir legten auf die Entfernung des Bindegewebes deshalb Wert, weil zu der Zeit, als wir unsere Versuche begannen, über sein Verhalten als Antigen nichts durch eigens hierauf gerichtete Versuche bekannt war, wenn auch eine erhebliche Beteiligung desselben als Antigen unwahrscheinlich sein mußte. Nach neueren Angaben von Bail und Margulies[4]) gelingt es auch mit dem Bindegewebe aus Meerschweinchennieren Forssmansche Hämolysine zu erzeugen. Wir werden später sehen, daß es mit den zellreichen Geweben wie Niere und Tumor zum mindesten besser gelingt, Antikörper beim Kaninchen zu erzielen als mit der relativ bindegewebsreichen Leber.

Wir gingen so vor, daß wir die Organe entbluteten Tieren entnahmen, sie zerschnitten und mit Kochsalzlösung abspülten. Die so möglichst blutleer gemachten Gewebstücke wurden in steriler Reibschale ohne Seesand zerrieben, wobei gerade Wert darauf gelegt wurde, die Bindegewebstränge nicht stark zu verkleinern. Der Brei wurde mit Kochsalzlösung verrührt und durch ein gewöhnliches steriles Handtuch unter leichtem Pressen filtriert. Die so erhaltene Organzellenaufschwemmung eignet sich sowohl zur intraperitonealen wie intravenösen Behandlung. Forssman hat festgestellt, daß hiernach nur noch ein Bruchteil des Ausgangsmaterials sich in der Suspension befindet. Da aber die Verluste an Zellmaterial bei gleichbleibender Behandlung nicht sehr bedeutend divergieren dürften, so geben wir nur die Mengen des Ausgangsmaterials an, wie dies auch Forssman tut, ohne jedesmal eine genaue Bestimmung des tatsächlichen Gehaltes an Organsubstanz in den verwendeten Zellemulsionen vorzunehmen.

---

[1]) l. c.

[2]) l. c.

[3]) J. Morgenroth und F. Rosenthal, diese Zeitschr. 39, 88, 1912.

[4]) O. Bail und A. Margulies, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 19, 185, 1913.

Für die intraperitoneale Injektion haben sich allen Untersuchern Mengen als zweckdienlich ergeben, die 1 bis 2 g des ursprünglichen Organs entsprechen. Größere Organmengen sind nach Forssman weniger wirksam und auch unter 1 g wird man im allgemeinen nicht heruntergehen dürfen. Die Injektion wird gewöhnlich mehrmals in Intervallen von 8 bis 10 Tagen wiederholt. Drei Injektionen genügen meist zur Immunisierung.

Die intraperitoneale Applikation hat jedoch gewisse Schwierigkeiten. Einmal verzögert sich häufig die Bildung der Antikörper, wohl aus Gründen, auf die wir schon hingewiesen haben. Ferner läßt sich auch bei der Verwendung von sterilen Gefäßen nicht mit absoluter Sicherheit eine bakterielle Verunreinigung vermeiden und man verliert deshalb eine größere Anzahl von Tieren an Peritonitis.

Die intravenöse Behandlung bietet verschiedene Vorteile. Forssman gibt an, daß man hier bedeutend weniger Immunisierungsmaterial braucht. 0,1 bis 0,25 g Ausgangsmaterial genügen. Doerr und Pick gaben dementsprechend 1 bis 2 ccm einer Aufschwemmung von 1 bis 2 g Organ in 10 bis 20 ccm Kochsalz. Dieser Vorteil fällt besonders dann ins Gewicht, wenn man mit den Organen kleiner Tiere arbeiten will. Die angegebenen Dosen werden von den Tieren auch mehrmals reaktionslos vertragen, besonders wenn man die Vorsicht gebraucht, die Emulsion ganz langsam zu injizieren.

Größere Mengen jedoch rufen bei den Tieren Krämpfe hervor und führen innerhalb 10 Minuten nach vorhergehendem Atemstillstand zum Tod. Bei der Sektion zeigten die betreffenden Kaninchen massenhaft stecknadelkopfgroße Blutungen im Myokard und Thymus und starke Hyperämie der Bauchorgane. Es handelt sich hier um die bekannte toxische Wirkung der Organextrakte.

Die überwiegende Mehrzahl unserer Versuchstiere immunisierten wir durch Injektion in die Bauchhöhle. Dabei verwendeten wir Mengen der in der oben geschilderten Weise hergestellten Organzellsuspensionen, die 1 bis 2 g des Ausgangsmaterials entsprachen. Die hier und da versuchten größeren Dosen steigerten den Effekt nicht, doch schwächten sie ihn auch nicht ab. Intravenös injizierten wir nur 2 Tieren Mengen, die 0,09 bis 0,18 g des ursprünglichen Organs entsprachen, das eine Mal bei der Injektion von Tumoremulsion mit gutem Erfolg. Ein anderes Mal bei der Injektion von Nierenemulsion gelang es nur, eine vorübergehende Steigerung des Hämolysingehaltes zu erzielen.

Orudschiew hatte bereits mitgeteilt, daß die Sera der mit Meerschweinchennieren behandelten Kaninchen Ziegenblut-

körperchen in demselben Maße wie Hammelblut lösen. Da auch wir, wie der folgende Versuch zeigt, die ziegenblutlösende Fähigkeit des Meerschweinchennieren-Kaninchenserums bestätigen konnten, so verwendeten wir Ziegenblut. In den folgenden Versuchen wurde also die Titration stets mit 0,5 ccm 5 $^0/_0$ igem Ziegenblut ausgeführt unter Zusatz von 0,05 ccm Meerschweinchenserum. Die kleinste Amboceptormenge, die unter diesen Bedingungen noch komplette Lösung gab, wurde als Amboceptoreinheit, A.-E., bezeichnet. Die Kaninchen wurden aus der Carotis entblutet, das Serum spätestens am folgenden Tage abpipettiert und bei 55° bis 56° $^1/_2$ Stunde im Wasserbad inaktiviert.

Im folgenden reproduzieren wir zuerst einen typischen Forssmanschen Versuch mit intraperitonealer Injektion.

Kaninchen 74.

8. VII. Emulsion aus Meerschweinchenniere intraperitoneal.
15. VII. Emulsion aus Meerschweinchenniere intraperitoneal.
21. VII. Entblutet. Einstellung mit Ziegenblut: 1 A.-E. = 0,0025 ccm.

In Bestätigung der Angaben von Orudschiew gelang es also durch 2 malige intraperitoneale Injektion von Meerschweinchennierenemulsion, die aus 1,0 g Organ hergestellt war, ein Kaninchenserum zu erzielen, das Ziegenblut noch in einer Verdünnung löst, in der normales Kaninchenserum niemals Lösungsvermögen zeigt.

Inzwischen haben wir eine große Reihe solcher heterologen Ziegenbluthämolysine kennen gelernt, und alle unsere Beobachtungen zeigen, daß entsprechend der weitgehenden Receptorengemeinschaft der Erythrocyten des Hammelblutes und des Ziegenblutes letzteres mit dem gleichen Erfolg verwendet werden kann.

Aus den nun im einzelnen geschilderten Versuchen geht hervor, daß es gelingt, durch Immunisierung von Kaninchen mit Mäuseniere spezifische, hämolytische Amboceptoren, die auf Ziegenblut wirken, zu erhalten.

Wir geben die Resultate der einzelnen Immunisierungsversuche wieder, bei denen durch Vorbehandlung von Kaninchen mit Mäusenieren Hämolysine für Ziegenblut entstanden. Die Amboceptoreinstellung erfolgte nach dem oben angegebenen Verfahren.

Der für die zur Immunisierung verwendeten Organemulsionen angegebene Prozentgehalt drückt, wie schon ausgeführt, nur die ursprüngliche, mit Kochsalzlösung verriebene Organmenge aus.

Kaninchen 1.

14. II. 13. 6,5 ccm einer 20%igen Emulsion intraperitoneal.

21. II. 1 A.-E. = 0,013 ccm.

22. II. 6 ccm einer 25%igen Emulsion intraperitoneal.

26. II. 1 A.-E. = 0,005 ccm.

Nach Aufbewahrung des inaktivierten Serums im Eisschrank am 11. III. A.-E. = 0,005. Dann erfolgt eine allmähliche Abschwächung des Amboceptors.

10. IV. A.-E. = 0,01 ccm.

18. IV. A.-E. = 0,02 ccm.

21. IV. A.-E. = 0,02 ccm.

Kaninchen 2.

14. II. 13. 7 ccm derselben 20%igen Emulsion wie Kaninchen 1 intraperitoneal.

21. II. A.-E. = 0,005 ccm.

Kaninchen 3.

22. II. 6,0 ccm einer 20%igen Emulsion intraperitoneal.

1. III. A.-E. = 0,005 ccm.

Kaninchen 4.

25. II. 10,0 ccm einer 20%igen Emulsion intraperitoneal.

5. III. A.-E. = 0,025 ccm.

6. III. 10,0 ccm einer 20%igen Emulsion peritoneal.

11. III. A.-E. = 0,01 ccm.

Das inaktivierte Serum wird im Eisschrank aufbewahrt. Spätere Prüfungen ergeben am 10. IV. 0,004 ccm; am 23. IV. und 8. V. 0,005 ccm als A.-E., also anscheinend eine Steigerung des hämolytischen Titers. Die Prüfung am 10. IV. wurde unter den gleichen Bedingungen vorgenommen wie die des gleichfalls aufbewahrten Serums von Kaninchen 1 und 5, die eine erhebliche Abschwächung zeigten.

Kaninchen 5.

25. II. 8,0 ccm derselben 20%igen Emulsion wie Kaninchen 4 intraperitoneal.

5. III. A.-E. = 0,0025 ccm.

Das im Eisschrank aufbewahrte Serum ergibt am 10. IV. A.-E. = 0,004 ccm, am 23. IV. A.-E. = 0,005 ccm, also deutliche Abschwächung.

Kaninchen 6.

2. IV. vor Beginn der Immunisierung A.-E. = 0,05 ccm.

3. IV. 4,0 ccm einer 38%igen Emulsion intraperitoneal.

12. IV. A.-E. = 0,01 ccm.

23. IV. Serum im Eisschrank aufbewahrt, A.-E. = 0,005 ccm.

12. IV. Emulsion von 2,5 g Niere intraperitoneal.
21. IV. A.-E. = 0,005 ccm.
21. IV. 8,0 ccm einer 28 %igen Emulsion intraperitoneal.
2. V. Probeentnahme, A.-E. = 0,001 ccm.
3. V. Entblutet.
5. V. A.-E. = 0,008 ccm.
20. V. A.-E. = 0,006 ccm.

Kaninchen 7.

2. IV. Vor Beginn der Immunisierung A.-E. = 0,025 ccm.
3. IV. 4,0 ccm derselben Emulsion wie Kaninchen 6 intraperitoneal.
12. IV. A.-E. = 0,01 ccm.
12. IV. Emulsion von 2,5 g Niere intraperitoneal.
21. IV. A.-E. = 0,01 ccm.

Kaninchen 8.

2. V. Vor Beginn der Immunisierung A.-E. = 0,1 ccm.
2. V. 0,9 ccm einer 1 %igen Emulsion intravenös.
7. V. A.-E. = 0,1 ccm.
10. V. A.-E. = 0,1 ccm.
15. V. 0,9 ccm einer 1 %igen Emulsion intravenös.
21. V. A.-E. = 0,05 ccm.
23. V. 0,09 ccm einer 1 %igen Emulsion intravenös.
29. V. A.-E. = 0,01 ccm.
2. VI. A.-E. = 0,05 ccm.
2. VI. 1,4 ccm einer 1 %igen Emulsion intravenös.
10. VI. A.-E. = 0,025 ccm.

Der maximale Titer der durch intraperitoneale Injektion von Mäusenierenemulsion behandelten Kaninchen beträgt:

Kaninchen 6: 0,001 ccm
" 5: 0,0025 "
" 1: 0,005 "
" 2: 0,005 "
" 3: 0,005 "
" 4: 0,01 " (0,005[1])
" 7: 0,01 "

Es waren also bei fünf Tieren ziemlich hochwertige Amboceptoren entstanden, wenn dieselben auch hinter den von anderen Autoren durch Immunisierung mit Meerschweinchenniere und Pferdeniere erhaltenen zurückstehen. Kaninchen 4 und 7 zeigen relativ schwache Amboceptoren, die noch im Bereiche der Variationsbreite der normalen, auf Ziegenblut wirkenden Amboceptoren des Kaninchenserums liegen können.

[1]) Siehe Bemerkung S. 93.

Das intravenös vorbehandelte Kaninchen 8 erreichte gleichfalls keine genügend hohen Amboceptorwerte.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Niere der Maus gewisse Receptoren enthält, die dadurch manifest werden, daß sie zur Auslösung von hämolytischen Amboceptoren für Ziegenblut führen.

Diese Amboceptoren sind dadurch als dem Forssmanschen Typus zugehörig gekennzeichnet, daß sie auf Rinderblut, wie wir in zahlreichen Versuchen feststellten, nicht einwirken. Ebensowenig wirken sie auf die Blutkörperchen der Maus[1]).

Wir gehen nun zur Besprechung der mit Emulsion aus Mäusetumoren (Stamm D) (Lewin) immunisierten Kaninchen über. Der Tumor wurde im Laboratorium von Maus zu Maus verimpft und erhielt schließlich eine solche Virulenz, daß 90 °/₀ der geimpften Mäuse angingen. Zur Immunisierung wurden nur wachsende, nicht nekrotisierte Geschwülste verwendet.

Kaninchen 9.

26. II. 10,0 ccm einer 27 °/₀igen Emulsion intraperitoneal.
6. III. A.-E. = 0,025 ccm.
8. III. 7,0 ccm einer 26 °/₀igen Emulsion intraperitoneal.
11. III. A.-E. = 0,025 ccm.
15. III. Entblutet.

Nach Aufbewahrung des inaktivierten Serums im Eisschrank am 10. IV. A.-E. = 0,002 ccm, am 23. IV. 0,007 ccm.

Kaninchen 10.

8. III. 7,0 ccm derselben Emulsion wie Kaninchen 11 intraperitoneal.
11. III. A.-E. = 0,1 ccm.
17. III. A.-E. = 0,01 ccm.

Nach Aufbewahren des inaktivierten Serums im Eisschrank 10. IV. A.-E. = 0,005 ccm, am 15. IV. 0,006 ccm. Am 28. IV. = 0,004 ccm.

Kaninchen 11.

19. III. 7,0 ccm einer 64 °/₀igen Emulsion intraperitoneal.
28. III. A.-E. = 0,025 ccm.
4. IV. 6,0 ccm einer 67 °/₀igen Emulsion intraperitoneal.
17. IV. A.-E. = 0,0025 ccm.
17. IV. Emulsion aus 3,1 g Tumor intraperitoneal.
26. IV. A.-E. = 0,0005 ccm.

---

[1]) Auch gegenüber Menschen-, Pferde-, Hunde-, Katzen-, Ratten- und Hühnerblut erwiesen sie sich als völlig unwirksam.

28. IV. Entblutet.

Serum inaktiviert und im Eisschrank aufbewahrt.

5. V. A.-E. = 0,002 ccm, 20. V. A.-E. = 0,002 ccm.

Kaninchen 12.

19. III. 7,0 ccm derselben Emulsion wie Kaninchen 13 intraperitoneal.

28. III. A.-E. = 0,05 ccm.

29. III. Emulsion aus 1,9 g Tumor intraperitoneal.

30. III. † Peritonitis.

Kaninchen 13.

19. III. 6,0 ccm derselben Emulsion wie Kaninchen 11 und 12 intraperitoneal.

28. III. A.-E. = 0,025 ccm.

29. III. Emulsion aus 1,9 g Tumor intraperitoneal.

31. III. † Peritonitis.

Kaninchen 14.

15. V. Vor Beginn der Immunisierung A.-E. = 0,05 ccm.

16. V. 0,9 ccm einer 10%igen Emulsion intravenös.

19. V. 0,9 ccm einer 10%igen Emulsion intravenös.

26. V. A.-E. = 0,005 ccm.

26. V. 0,9 ccm einer 17,5%igen Emulsion intravenös.

2. VI. A.-E. = 0,005 ccm.

2. VI. 0,9 ccm einer 20%igen Emulsion intravenös.

10. VI. A.-E. = 0,0005 ccm.

12. VI. A.-E. = 0,0005 ccm.

Dasselbe Serum inaktiviert im Eisschrank aufbewahrt am 19. VII. A.-E. = 0,00025 ccm.

Der maximale Titer, der durch intraperitoneale Injektion von Mäusetumor immunisierten Kaninchen betrug also:

Kaninchen	11:	0,0005 ccm
„	9:	0,002 „
„	10:	0,005 „
„	13:	0,025 „

Durch die intraperitoneale Injektion von Mäusetumoremulsion konnten beim Kaninchen in einem Fall sehr hochwertige, in zwei weiteren Fällen etwas schwächere, aber doch noch ziemlich starke Amboceptoren erzielt werden. Die beiden Tiere 12 und 13 starben vorzeitig, kurz nach der zweiten Injektion. Die Steigerung des Amboceptorgehaltes über die Norm gelang jedoch stets erst nach mehreren Injektionen.

Durch die intravenöse Behandlung wurde ebenfalls ein sehr hochwertiges Serum mit dem maximalen Titer 0,00025 ccm erhalten.

Dieser hohe Titer wurde durch 4 malige Injektion von insgesamt etwa 0,5 g Ausgangsmaterial erzielt.

Auch die Tumorsera lösten Ochsen- und Mäuseblut nicht und erwiesen sich dadurch als dem Forssmanschen Typus zugehörig[1]).

Wir versuchten noch bei einer Anzahl von Kaninchen durch analoge Behandlung mit anderen Organen, nämlich Leber und Gehirn, sowie mit Embryonen der Maus Ziegenhämolysine herzustellen.

Kaninchen 14 Mäuseleber.

25. II. 8,0 ccm einer 20%igen Emulsion intraperitoneal.
5. III. A.-E. = 0,1 ccm.
6. III. 10,0 ccm einer 20%igen Emulsion intraperitoneal.
11. III. A.-E. = 0,025 ccm.

Kaninchen 15 (24) Mäuseleber.

25. II. 9,0 ccm derselben Emulsion wie Kaninchen 9 intraperitoneal.
5. III. A.-E. = 0,25 ccm.
6. III. 10,0 ccm derselben Emulsion wie Kaninchen 9 intraperitoneal.
11. III. A.-E. größer als 0,5 ccm.
30. III. A.-E. = 0,05 ccm.

Trotz 2 maliger Injektion von 8 bis 10 ccm 20%iger Leberemulsionen, also von Mengen, die sich uns bei der Verwendung von Niere öfter bewährt hatten, gelang es bei den beiden Versuchstieren nicht, den Amboceptorgehalt des Serums für Ziegenblut erheblich über die Norm zu steigern. Bei Kaninchen 10 wird der normalerweise mögliche Amboceptorgehalt nicht überschritten; bei Kaninchen 9 dürfte eine Steigerung, wenn auch in geringem Maße, stattgefunden haben.

Keinen Ausschlag erhielten wir bei der Verwendung von Mäusegehirn und Mäuseembryonen. 8 Tage nach der intraperitonealen Injektion von 9 bzw. 9½ ccm einer 20%igen Mäusegehirnemulsion war 1 A.-E. bei den beiden behandelten Tieren = 0,05 und 0,25 ccm.

Bei zwei weiteren mit je 10 ccm einer 20%igen Emulsion von

---

[1]) Sie lösten außerdem nicht Menschen-, Pferde-, Hunde-, Katzen- und Hühnerblut. Das Serum des Tieres Nr. 11 löste am 30. IV. 0,5 ccm 5%iges Rattenblut, Katzenblut und Pferdeblut noch in der Menge von 0,05 ccm komplett.

Die beiden gleichzeitig geprüften Tumorsera 9 und 10 zeigten auch in Mengen von 0,1 ccm nur partielles Lösungsvermögen für Ratten- und Pferdeblut, während Katzenblut von 0,1 ccm Serum 9 komplett, von der gleichen Menge des Serums 10 dagegen nur stark gelöst wurde. Eine Gesetzmäßigkeit im Verhalten den drei genannten Blutarten gegenüber ließ sich hier also nicht erkennen, um so weniger, als auch das Serum unbehandelter oder mit anderen Mäuseorganen behandelter Kaninchen in der Regel von 0,1 ccm eine oder mehrere der genannten Blutsorten löste.

Mäuseembryonen behandelten Kaninchen war ebenfalls 8 Tage nach der Injektion 1 A.-E. = 0,05 und 0,25 ccm.

Auch bei der Behandlung mit Niere gelingt die Herstellung starker Amboceptoren nicht regelmäßig. Da wir nur 2 Tiere mit Leber immunisierten, so beweisen die negativen Ergebnisse noch nicht, daß die Leber als Antigen völlig unbrauchbar ist, wenn es auch den Anschein hat, als ob sie sich, ebenso wie beim Meerschweinchen, weniger gut zur Immunisierung eigne. Die Immunisierungsversuche mit Gehirn und Embryonen mußten nach der ersten Injektion abgebrochen werden. Da auch bei Verwendung des besten Mäuseantigens, des Tumors, die Erhöhung des Ziegenbluttiters erst nach der zweiten Injektion einsetzte, so ist der negative Ausfall dieser Versuche nicht beweisend.

Die Sera der beiden Lebertiere lösten auch Ochsen- und Mäuseblut nicht und ebensowenig Menschen-, Hunde-, Katzen-, Ratten- und Hühnerblut. 1 A.-E. für Pferdeblut war 0,1 und 0,05 ccm.

Aus den mitgeteilten Versuchsprotokollen geht also hervor, daß sich Mäuseleber für die Erzielung von Ziegenhämolysinen beim Kaninchen recht schlecht eignet. Mit Nierenzellen gelingt dies schon viel besser, dagegen wurden die stärksten Amboceptoren durch Immunisierung mit Mäusetumor gewonnen. Dieses verschiedene Verhalten verschiedener Organe deutet vielleicht darauf hin, daß ihr Antigengehalt verschieden groß ist, daß der Tumor mehr Antigen als die Niere, und diese wiederum mehr als die Leber enthält. Natürlich kann hier nur die Schar der Antigene in Betracht gezogen werden, die den Ziegenamboceptoren entspricht; andere Antigene, deren Existenz sehr wahrscheinlich ist, entziehen sich eben dem Nachweis. Analoge quantitative Unterschiede beobachteten Doerr und Pick[1]) bei Bindungsversuchen, die sie mit verschiedenen Mäuseorganen und Mäusetumor und einem Pferdenierenserum anstellten; sie zogen daraus denselben Schluß.

2. Bindungsversuche.

Aus den vorausgehenden Versuchen geht hervor, daß in gleicher Weise durch die Immunisierung von Kaninchen mit Nierenzellen und Tumorzellen der Maus hämolytische Amboceptoren vom Forssmanschen Typus entstehen, d. h. Amboceptoren, die nur auf Ziegenblut, in keinem Falle dagegen auf Rinderblut einwirken. Damit ist natür-

---

[1]) R. Doerr und R. Pick, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 19, 251, 1913.

lich **keineswegs gesagt, daß diese Amboceptoren unter sich identisch sind.**

Es bestand die Möglichkeit, in bezug auf diese Frage vergleichende Bindungs- und Transgressionsversuche unter alleiniger Benutzung von Ziegenblutkörperchen ohne Bindung der Amboceptoren an Organe anzustellen. Wir waren aber der Überzeugung, daß derartige Versuche zu einem eindeutigen Resultat nicht führen können, da schon frühere Erfahrungen von Morgenroth und F. Rosenthal[1]) gezeigt hatten, daß diese beiden Funktionen schon bei Amboceptorsera, die in einheitlicher Weise durch Immunisierung von Kaninchen mit Ziegenblut hergestellt waren, weitgehende Variabilität aufweisen.

Es erschien aussichtsvoller, etwaige Unterschiede festzustellen, wenn wir das Verhältnis dieser Amboceptoren zu den Nieren- und Tumorzellen selbst untersuchten.

Wir lassen zunächst die Schilderung der Versuchstechnik folgen.

Die zur Bindung benutzte Organemulsion haben Forssman[2]) sowie Forssman und Hintze[3]) genau so hergestellt wie die zur Immunisierung: 4 g Organe werden zerrieben, mit 10 oder 20 ccm 0,8%iger Kochsalzlösung aufgeschwemmt und durch ein doppeltes Preßtuch gepreßt. Ebsenso arbeiten Doerr und Pick[4]). Orudschiew[5]) hält sich wieder an die früheren Vorschriften von Morgenroth und Rosenthal. Nach dieser werden die Emulsionen, wie sie zur Immunisierung hergestellt werden, mit viel Kochsalz gewaschen und zentrifugiert. Die Organzellen werden dann von den unten sitzenden Blutkörperchen abgenommen, gewogen und mit Kochsalzlösung (0,85%ig) eine Suspension von 10 Gewichtsprozent hergestellt. Diese wurde häufiger im „Frigo" eingefroren aufbewahrt und vor dem Gebrauch nach dem Auftauen durch starkes Schütteln homogenisiert.

Zum Versuch nahm Forssman 0,5 ccm seiner filtrierten Suspension, gab dazu eine nicht näher angegebene Menge des zu prüfenden Serums und 0,1 ccm Komplement, hielt das Ganze 40 Minuten bei 37° und zentrifugierte dann, bis die überstehende Flüssigkeit hell und opalescierend war. Diese stellte er dann mit 1,0 ccm 5%igem Hammelblut ein, indem er das System 1 Stunde bei 37° hielt.

Die Mengen des zugesetzten Serums sind jedoch nicht angegeben. Sind diese nun groß, so kann schon eine ziemliche Anzahl von Ambo-

---

[1]) J. Morgenroth und F. Rosenthal, diese Zeitschr. 36, 190, 1911.
[2]) l. c.
[3]) J. Forssman und A. Hintze, diese Zeitschr. 44, 336, 1912.
[4]) l. c.
[5]) l. c.

ceptoreinheiten gebunden sein und trotzdem später noch komplette Hämolyse mit dem Abguß erfolgen. Eine etwa vorhandene Bindung geringeren Grades wird dann durch die Abgußuntersuchung nicht festgestellt. Forssman stützt sich darauf, daß gleich große Suspensionsmengen anderer Organe sämtliche Hämolysine aus der gleichen Serummenge binden. Dies Verhältnis braucht aber nur der Ausdruck eines schwächeren, nicht jedoch eines fehlenden Bindungsvermögens des zu untersuchenden Organs zu sein. Deshalb kann man auf diese Weise zu irrtümlichen Resultaten kommen, wie denn auch Forssman auf Grund seiner Versuche annahm, daß Meerschweinchenleber die Amboceptoren eines Meerschweinchenleber-Kaninchenserums nicht bindet, was später von Orudschiew richtiggestellt wurde.

Doerr und Pick haben in ihrer ersten Mitteilung eine Methode angewandt, die, wie sie selbst sagen, nur zur vorläufigen Orientierung diente. Emulsion aus 1 g wird mit 0,5 ccm Serum 1 Stunde bei 37° gehalten, klar zentrifugiert und der Abguß eingestellt. Ein Vergleich mit der Lösungsfähigkeit des nicht vorbehandelten Serums ergibt dann, ob Bindung stattfand. Ebenso wie bei der Forssmanschen Methode kommen hierbei jedoch nur gröbere Unterschiede zum Ausdruck. Deshalb haben sie später fallende Organmengen (1,0 bis 0,1 g) genau abgewogen, in der Reibschale sorgfältig zerrieben und mit 0,5 ccm Serum verdünnt. Die Aufschwemmung wurde dann quantitativ in Zentrifugengläser gebracht, 1 Stunde im Brutschrank gehalten und dann zentrifugiert. Der Abguß wurde mit 0,05 ccm konzentriertem Hammelblut und 0,05 ccm Meerschweinchenserum eingestellt. Eine leichtere Art der Abmessung verwendete Orudschiew. Da bei seinen nach Morgenroths Angaben hergestellten Zellsuspensionen die Zellmenge abgewogen war, konnten fallende Quanten einfach durch Abmessen der Flüssigkeit erhalten werden. Mit diesen wurden gleiche Mengen geeigneter Serumverdünnungen 1 Stunde bei 37° gehalten, zentrifugiert und der klare Abguß eingestellt (0,5 ccm 7 bis 8%iges Hammelblut und 0,05 ccm Meerschweinchenserum). Auf diese Weise wird bestimmt, welche Organmenge noch genügt, eine bestimmte Amboceptormenge zu binden. Es wird ermöglicht, feinere Abstufungen zu machen und dadurch auch feinere Unterschiede der Bindungsfähigkeit zu demonstrieren. Schiff[1]) verwendete zu seinen Bindungsversuchen ungewaschene Zellemulsionen. Die abgewogenen Mengen der mit Kochsalzlösung abgespülten Organe wurden fein zerschnitten, mit der doppelten Menge Kochsalzlösung in der Reibschale zerrieben und dann 2 Stunden bei 37° digeriert. Dann wurde die Aufschwemmung wenige Minuten zentrifugiert und der trübe zellreiche Abguß zum Versuch verwendet. Die roten Blutkörperchen haben sich beim Zentrifugieren zu Boden gesetzt, so daß von ihnen abgegossen werden kann. Teilweise wurde die Verreibung auch nur durch Gaze filtriert und dann zum Versuch benutzt.

---

[1]) l. c.

Da es uns im folgenden hauptsächlich darum zu tun war, die Bindung von Tumor und Nierengewebe zu vergleichen, so genügte uns eine gröbere Methode. Wir benutzten einmal die von Morgenroth und Rosenthal und Orudschiew verwendete, meist aber eine solche, wie sie zuerst auch von Doerr und Pick benutzt wurde. Dabei bestimmten wir jedesmal vor dem Versuch den hämolytischen Titer des zu untersuchenden Serums und konnten dann berechnen, wieviel A.-E. in der verwendeten Abgußmenge vorhanden sein müßten, wenn gar nichts gebunden worden wäre. Diese Mengen sind in den Versuchsprotokollen vermerkt. Die Werte haben jedoch nur approximative Bedeutung, denn die Amboceptoreinstellung wurde in der üblichen Weise angestellt mit Differenzen von 20 bis 25%. Es wurden 2,5, 3,0, 5,0 ccm einer 10%igen Zellsuspension 1 Stunde bei 37° mit einer stets angegebenen Menge des zu untersuchenden Serums im Brutschrank gehalten, möglichst klar zentrifugiert und der Abguß eingestellt.

Für Untersuchungen, bei denen es auf kleine quantitative Unterschiede in der Bindung ankommt, möchten wir statt der etwas umständlichen Methode von Doerr und Pick eine bequemere empfehlen, die wir im folgenden allerdings nur einmal benutzten, die uns aber bei den später zu besprechenden Verstopfungsversuchen gute Dienste leistete. Wir setzten zu gleichen Mengen 10%iger Suspension (gewöhnlich 0,5 ccm) fallende Amboceptormengen, hielten die Mischung 1 Stunde bei 37°, zentrifugierten scharf und prüften, wo zuerst der Abguß komplette Hämolyse verursachte. Die verwendete Zellmenge hatte dann 1 A.-E. weniger gebunden als zugesetzt war.

Es ist zu beachten, daß nur solche Bindungsversuche miteinander verglichen werden können, bei denen nicht nur gleiche Mengen lösender Dosen verwendet wurden, sondern bei denen auch das Serum in derselben Verdünnung den Zellen zur Bindung geboten wurde. Denn aus konzentrierten Lösungen bindet die gleiche Zellemulsion mehr, als aus verdünnten, wie der folgende Versuch lehrt.

Vorversuch vom 15. VI. 13.

A. 1,2 ccm des inaktivierten Serums des mit Mäusetumor immunisierten Kaninchens 11 = 600 A. E. (A.-E. = 0,002 ccm) werden 1 Stunde mit 5,0 ccm 5%igem Ziegenblut im Brutschrank gehalten und dann zentrifugiert.

Einstellung des Abgusses mit 0,5 ccm 5%igem Ziegenblut und 0,05 ccm Meerschweinchenserum.

Abgußmenge	Menge der A.-E.	Lösung
0,1 $^{1}/_{10}$	1	Spur
0,2	2	Spur
0,4	4	s. w.
0,8	8	w.
1,0	10	m.—w.
0,2 unverd.	20	st.
0,4	40	f. k.
0,6	60	k.
0,8	80	k.

5,0 ccm 5%iges Ziegenblut haben also von den dargebotenen 600 A.-E. 585 bis 590 gebunden.

B. 5,0 ccm 5%iges Ziegenblut werden mit 1,2 ccm desselben Serums = 600 A.-E. und 8,8 ccm Kochsalzlösung 1 Stunde im Brutschrank gehalten und dann zentrifugiert. Einstellen des Abgusses mit 0,5 ccm 5%igem Ziegenblut und 0,05 ccm Meerschweinchenserum.

Abgußmenge	Menge der A.-E.	Lösung
0,1 unverd.	4	f. k.
0,2	8	k.
0,25	10	k.

Aus dem verdünnten Amboceptorgemisch hat also die gleiche Zellmenge nur zirka 450 von 600 A.-E., also bedeutend weniger gebunden, als aus dem unverdünnten.

C. In einem dritten Teil des Versuchs gingen wir so vor, daß wir die Bindung mit einer 10 mal kleineren Erythrocytenmenge in einem 10 mal kleineren Volumen vornahmen, wie in dem vorangehenden Teil B des Versuchs.

Steigende Serummengen des gleichen Serums werden mit je 0,5 ccm 5%igen Ziegenbluts im Volumen 1,5 ccm 1 Stunde im Brutschrank gehalten und dann zentrifugiert. Die Hämolyse des Abgusses wird mit 0,5 ccm 5%igen Ziegenbluts geprüft.

Serummengen	Menge der A.-E.	Lösung
0,4 $^{1}/_{10}$	20	Spur
0,6	30	m.—w.
0,8	40	st.
0,84	42	st.
0,88	44	f. k.
0,92	46	k.
0,96	48	k.

Hier haben also 0,5 ccm 5%igen Ziegenbluts im Volumen 1,5 ccm 44 A.-E. gerade noch gebunden. Inwieweit die Übereinstimmung dieser Zahl mit dem Ergebnis aus dem Teil B dieses Versuchs ein zufälliges ist, mag hier unerörtert bleiben. Es soll nur wiederum auf die bekannte Tatsache hingewiesen werden,

daß eine gleiche Blutmenge aus einer größeren Amboceptormenge mehr lösende Dosen bindet als aus einer kleinen. Diese Tatsache, im Verein mit dem eben demonstrierten Einfluß des Volumens auf die Bindungsgröße, wird uns veranlassen, nur solche Bindungsversuche miteinander zu vergleichen, die mit demselben Serum, derselben Serummenge und möglichst am gleichen Tag mit verschiedenen, auf ihre Bindung zu prüfenden Substanzen vorgenommen wurden.

Schließlich wollen wir noch darauf aufmerksam machen, daß Ziegenblut in jedem Fall die Hämolysine des Tumorserums in erheblicher Menge gebunden hat. Wir behalten uns vor, hierauf später zurückzukommen.

Im folgenden gehen wir nun zur Besprechung der Bindungsversuche über, und zwar soll zuerst die Bindung verschiedener Nierensera an Mäuseniere und Tumor im Zusammenhang dargestellt werden.

I. Bindungsversuche mit Nierenserum.

Bindungsversuch 1 vom 5. V. 13.

Inaktiviertes Serum des mit Mäusenieren immunisierten Kaninchens 6. A.-E. = 0,008 ccm.

Es wurden in der oben beschriebenen Weise hergestellte Zellemulsionen von Mäuseniere, Mäusetumor und Kaninchenniere verwendet. Die Kaninchenniere diente als Kontrolle, um über das Maß einer etwaigen unspezifischen Bindung durch Nierengewebe Aufschluß zu geben; um die Reaktion noch empfindlicher zu gestalten, wurde von der Kaninchenniere das doppelte Quantum Emulsion verwendet. Die Emulsionen waren stets 10%ig. Zu je 2,5 ccm Mäusenierenemulsion vom 5. V. (A) Mäusetumoremulsion vom 25. IV. (B), sowie zu 5,0 ccm Kaninchennierenemulsion vom 5. V. (C) wurden je 1,2 ccm des Serums gleich 150 A.-E. zugesetzt. Die Gemische blieben unter häufigem Umschütteln 1 Stunde im Brutschrank bei 38°. Hierauf wurde zentrifugiert, bis die Flüssigkeit nur mehr schwache Opalescenz zeigte und fallende Mengen der Abgüsse mit 0,5 ccm 5%igem Ziegenblut und 0,1 ccm Meerschweinchenserum versetzt.

Die Resultate sind in der folgenden Tabelle wiedergegeben.

	A Mäuse-niere	B Mäuse-tumor		C Kaninchen-niere
0,25 = 10 A.-E.	k.	k.	1,0 $^1/_{10}$ = $2^1/_2$ A.-E.	k.
1,0 $^1/_{10}$ = 4 „	k.	k.	0,5 = $1^1/_4$ „	k.
0,5 = 2 „	f. k.	st.-m.	0,25 = $^5/_8$ „	f. k.
0,25 = 1 „	st.—m.	w.		—
0		Spürchen		—

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß eine unspezifische Bindung, wie sie bei dem Versuch mit Kaninchenniere (C) in Erscheinung treten würde, wohl keine Rolle spielt. Von $1\,^1/_4$ A.-E. ist sicherlich nicht mehr als $^1/_4$ A.-E. gebunden worden und $^5/_8$ A.-E. geben noch fast komplette Hämolyse; bei Darbietung von $2\,^1/_2$ A.-E. ist bei der benutzten Versuchsanordnung eine Bindung nicht mehr zu erkennen. Dagegen gibt der Abguß von der Nierenemulsion erst dann vollständige Hämolyse, wenn dem Blut so viel zugesetzt wird, als einem ursprünglichen Gehalt von 4 Amboceptoreinheiten entspricht. Geringere Mengen, entsprechend einem ursprünglichen Gehalt von 2 resp. 1 A.-E., ergeben nur mehr fast komplette resp. starke bis mäßige Hämolyse. Es hat also die Mäusenierenemulsion mehr als die Hälfte der dargebotenen 150 A.-E. gebunden.

Die Bindung durch Mäusetumor ist derjenigen durch Niere mindestens gleich, sogar um einiges stärker. Auch hier ist eine Abgußmenge, die einem ursprünglichen Amboceptorgehalt von 4 A.-E. entspricht, die erste komplett lösende. Mengen, die einem ursprünglichen Gehalt von 2 und 1 A.-E. entsprechen, ergeben nur starke bis mäßige resp. geringe Hämolyse.

Ein ganz ähnliches Resultat hatte das Serum desselben Kaninchens bei einer früheren Untersuchung ergeben.

Versuch 2 vom 23. IV. 13.

100 Amboceptoreinheiten = 0,5 ccm Serum des mit Mäusenieren immunisierten Kaninchens 6 (A.-E. = 0,005) werden mit je 2,5 ccm Mäusenierenemulsion vom 17. IV. und Mäusetumoremulsion vom 15. IV. und 23. IV. gemischt, 1 Stunde im Brutschrank gehalten, dann zentrifugiert und der Abguß wie im vorigen Versuch eingestellt. Die Kaninchennierenkontrolle fiel hier fort.

Abgußmenge	Mäuseniere	Mäusetumor
0,25 = 8 A.-E.	k.	k.
1,0 $^1/_{10}$ = 3 "	k.	f. k.
0,5 = $1^1/_2$ "	m.	w.
0,25 = $^3/_4$ "	w.	s. w.

Mäuseniere bindet von den dargebotenen 100 A.-E. mehr als die Hälfte, Mäusetumor etwas mehr.

Dagegen läßt der folgende Versuch, der in der Art angestellt wurde, wie die Bindungsversuche von Morgenroth und F. Rosenthal (Methode I), die stärkere Bindung durch Tumor deutlicher hervortreten.

Versuch 3 vom 11. IV. 13.

Verschiedene Serummengen des mit Mäusenieren behandelten Kaninchens 4 werden mit je 1,0 ccm einer 10%igen Mäusenieren-, Mäusetumor- und Kaninchennierenemulsion vom 11. IV. 40 Minuten im Brutschrank gehalten, zentrifugiert und der Abguß in der üblichen Weise eingestellt gegen Ziegenblut.

I. 0,032 ccm Serum = 8 A.-E. mit je 1,0 ccm Organsuspension im Volumen 2,0.

	Abgußmenge	Mäuseniere	Mäusetumor	Kaninchenniere
1.	1,0 = 4 A.-E.	f. k.	m.—w.	k.
2.	0,5 = 2 „	st.—m.	s. w.	k.
3.	0,25 = 1 „	st.	w.	k.

II. 0,048 ccm Serum = 12 A.-E. mit je 1,0 ccm Organzellensuspension im Volumen 2,0 ccm.

	Abgußmenge	Mäuseniere	Mäusetumor	Kaninchenniere
1.	1,0 = 6 A.-E.	f. k.	st.	k.
2.	0,5 = 3 „	st.	w.	k.
3.	0,25 = 1,5 „	st.—m.	s. w.	k.

III. 0,064 ccm Serum = 16 A.-E. mit je 1,0 ccm Organzellensuspension im Volumen 2,0 ccm.

	Abgußmenge	Mäuseniere	Mäusetumor	Kaninchenniere
1.	1,0 = 8 A.-E.	k.	m.	k.
2.	0,5 = 4 „	f. k.	w.	k.

Aus den angeführten Protokollen geht hervor, daß **die durch Mäuseniereninjektion gewonnenen Ziegenblutamboceptoren sowohl durch Mäuseniere wie durch Mäusetumor gebunden werden**, während gleichgroße Mengen von Kaninchenniere im Parallelversuch keine Bindung zeigten. 1,0 ccm 10%ige Kaninchennierensuspension hat auch von 2 dargebotenen A.-E. nichts gebunden, da die Hälfte des Abgusses komplett löste und auch in stärkerer Konzentration, also in den verbesserten Bindungsbedingungen, wurde die lösende Kraft des zugesetzten Serums nicht beeinflußt. **Dieser Befund entspricht der Erwartung, daß die Organe des Kaninchens keine Receptoren besitzen für Antikörper, die es selbst bildet.**

Versuch 4 vom 18. IV. 13.

Anhangsweise wollen wir noch über den folgenden Versuch berichten, bei dem das verwendete Serum des mit Mäusenieren immunisierten Kaninchens bereits eine starke Abschwächung erfahren hatte. 1 A.-E.

desselben betrug 0,02 ccm. 2,0 ccm dieses Serums, also 100 A.-E. wurden mit je 2,5 ccm einer 10%igen Mäusenierenaufschwemmung vom 17. IV. in einer 10%igen Mäusetumoraufschwemmung vom 18. IV., sowie mit 5,0 ccm 10%iger Kaninchennierenaufschwemmung zur Kontrolle 1 Stunde im Brutschrank gehalten. Dann wird zentrifugiert und der Abguß gegen 0,5 ccm 5%iges Ziegenblut geprüft.

Abgußmenge		Mäuse-niere	Mäuse-tumor		Kaninchen-niere
0,5	= 11 A.-E.	k.	k.	= 8 A.-E.	k.
0,25	= $5^1/_2$ „	k.	k.	= 4 „	k.
1,0 $^1/_{10}$	= $2^1/_5$ „	k.	f. k.	= 1,6 „	k.
0,5	= 1 „	f. k.	m.	= 0,8 „	k.
0,25	= $^1/_2$ „	w.	w.	= 0,4 „	m.

Kaninchenniere hat also, trotzdem die doppelte Zellmenge wie von Mäusetumor und Niere verwendet wurde, das Serum unbeeinflußt gelassen.

Dagegen haben die beiden Mäusezellarten über die Hälfte der dargebotenen Hämolysine gebunden, und zwar Mäusetumor etwas mehr als Niere.

II. Bindungsversuche mit Tumorserum.

Versuch 5 vom 5. V. 13.

Zu diesem Versuch wird das inaktivierte Serum des mit Mäusetumor immunisierten Kaninchens 11 verwandt. Eine Amboceptoreinheit desselben betrug 0,002 ccm. 0,6 ccm dieses Serums = 300 A.-E. werden mit je 2,5 ccm Mäusenierenemulsion vom 5. V. und Mäusetumoremulsion vom 25. IV., sowie mit 5,0 ccm Kaninchennierenemulsion vom 5. V. zur Kontrolle 1 Stunde im Brutschrank gehalten. Dann wird zentrifugiert und fallende Mengen des klaren Abgusses mit Ziegenblut in der üblichen Weise geprüft.

Abgußmenge		Mäuse-niere	Mäuse-tumor		Kaninchen-niere
0,5 $^1/_{10}$	= 5 A.-E.	k.	k.	= 3 A.-E.	k.
0,25	= $2^1/_2$ „	k.	k.	= 1 „	k.
1,0 $^1/_{100}$	= 1 „	st.—m.	m.	= $^2/_3$ „	m.
0,5	= $^1/_2$ „	m.	m.—w.	= $^1/_3$ „	m.—w.

Kaninchenniere hat hier also gar nichts gebunden; denn eine Abgußmenge, die unter der Annahme, daß nichts von dem zugesetzten Hämolysin entfernt worden ist, noch eine lösende Dosis enthalten mußte, hat tatsächlich komplette Hämolyse ergeben.

Gleiche Gewichtsteile von Mäuseniere und Tumor haben beide das Tumorserum zu binden vermocht, und zwar ungefähr in derselben Stärke. Beide Zellsuspensionen rissen von den dargebotenen 300 A.-E. etwas mehr als die Hälfte an sich.

Versuch 6 vom 18. IV. 13.

0,6 ccm Serum des mit Mäusetumor behandelten Kaninchens 10 = 100 A.-E. (1 A.-E. = 0,06 ccm) wird 1 Stunde im Brutschrank gehalten mit

a) 2,5 ccm 10%iger Mäusenierenaufschwemmung vom 17. IV.;
b) 2,5 ccm 10%iger Mäusetumoraufschwemmung vom 18. IV.;
c) 5,0 ccm 10%iger Kaninchennierenaufschwemmung vom 10. IV.
Dann wird zentrifugiert und der Abguß wie gewöhnlich eingestellt.

Abgußmenge		Mäuseniere	Mäusetumor		Kaninchenniere
0,5	= 17 A.-E.	k.	k.	—	—
0,25	= 8,4 „	k.	k.	—	—
1,0 ¹/₁₀	= 3 „	k.	f. k.	= 2 A.-E.	k.
0,5	= 1,7 „	f. k.	m.	= 1 „	k.
0,25	= 0,8 „	m.	w.	= ¹/₂ „	st.—m.

Die zur Kontrolle verwendete Kaninchenniere hat also, trotzdem von ihr die doppelte Menge wie bei den Mäusezellen verwendet wurde, die Ziegenhämolysine des zugesetzten Tumorserums unbeeinflußt gelassen.

Die Mäusezellen jedoch haben beide eine Bindung ergeben, und zwar hat die verwendete Menge Mäuseniere von den dargebotenen 100 A.-E. ca. die Hälfte festgehalten. Die gleiche Menge Mäusetumor jedoch hat ca. ³/₄ gebunden. Mäusetumor hat also gegenüber den Hämolysinen des Tumorserums Nr. 8 ein stärkeres Bindungsvermögen als die gleichgroße Menge Mäuseniere.

In diesen beiden Versuchen (5 und 6) handelt es sich um nicht sehr hochwertige Sera. Ihre Amboceptoren werden von dem zugehörigen Antigen, dem Tumorgewebe, nicht stärker gebunden als von Nierengewebe, oder aber das stärkere Bindungsvermögen der Tumorzellen überschreitet doch nicht erheblich das Maß dessen, was wir aus den analogen Versuchen mit Nierensera kennen.

Größere Unterschiede treten erst bei den hochwertigen Tumorsera der folgenden Versuche hervor.

Versuch 7 vom 26. IV. 13.

Zum Versuch wird Serum des mit Mäusetumor immunisierten Kaninchens 11 benutzt. Je 0,1 ccm dieses Serums = 200 A.-E. (1 A.-E. = 0,0005 ccm) werden mit je 2,5 ccm 10%iger Mäusenieren- und Mäusetumoraufschwemmung vom 25. IV., sowie mit 5,0 ccm 10%iger Kaninchennierenaufschwemmung vom 16. IV. 1 Stunde im Brutschrank gehalten. Dann wird zentrifugiert, und der Abguß wie gewöhnlich eingestellt.

Abgußmenge	A Mäuseniere	B Mäusetumor		C Kaninchenniere
1,0 = 80 A.-E.	k.	k.	1,0 $^{1}/_{10}$ = 4 A.-E.	k.
0,5 = 40 "	k.	k.		
0,25 = 20 "	k.	f. k.	0,5 = 2 "	k.
1,0 $^{1}/_{10}$ = 8 "	k.	m.	0,25 = 1 "	f. k.
0,5 = 4 "	ts.	w.		
0,25 = 2 "	st.—m.	s. w.		
0	0			

Auch hier zeigt der Versuch mit Kaninchenniere, daß eine unspezifische Bindung der Nierenzellen außer acht gelassen werden kann.

Eine stark spezifische Bindung wurde dagegen mit den Mäuseorganen erzielt. Es hat nämlich die Mäusenierenemulsion von der dargebotenen Amboceptorenmenge mindestens $^{3}/_{4}$, höchstens $^{7}/_{8}$ gebunden, von den dargebotenen 200 A.-E. sind also im Abguß nach 25 bis 50 vorhanden. Die Bindung der Mäusetumoremulsion ist erheblich größer; es sind mindestens $^{19}/_{20}$, höchstens $^{39}/_{40}$ gebunden, es sind also von den dargebotenen 200 A.-E. 5 bis 10 vorhanden. Die Bindung unseres Tumorserums durch die Tumoremulsion ist also unter sonst gleichen Bedingungen eine stärkere wie die Bindung durch Mäusenierenemulsion.

Nach der spontanen Abschwächung des Serums im Eisschrank konnte, wie der Versuch 5 zeigte, dieser Unterschied nicht mehr konstatiert werden.

Versuch 8 vom 25. VI. 13.

Serum des mit Mäusetumor immunisierten Kaninchens 14. A.-E. = 0,0005 ccm. A. 3,0 ccm 10%ige Mäusenierenaufschwemmung vom 20. VI. 13. B. 3,0 ccm 10%ige Mäusetumoraufschwemmung vom 20. VI. Zugesetzt 0,15 ccm Serum = 300 A.-E.

Abgußmenge	A Mäuseniere	B Mäusetumor
1,0 = 100 A.-E.	k.	k.
0,75 = 75 "	k.	k.
0,5 = 50 "	k.	k.
0,25 = 25 "	k.	f. k.
1,0 $^{1}/_{10}$ = 10 "	k.	m.
0,75 = $7^{1}/_{2}$ "	k.	m.—w.
0,5 = 5 "	st.	w.
0,25 = $2^{1}/_{2}$ "	m.—w.	s. w.
Spur		

Wie die Tabelle zeigt, sind nach Bindung an Mäuseniere von den dargebotenen 300 A.-E. 40 bis 60 noch vorhanden.

Nach Bindung an den Mäusetumor sind noch höchstens 30, mindestens 12 Einheiten vorhanden.

Dieser Versuch zeigt ebenso wie Versuch 7, daß durch Tumorimmunisierung erzeugte Amboceptoren sowohl von Mäusetumor wie von Mäuseniere gebunden werden im Sinne der oben hervorgehobenen Receptorengemeinschaft. Die Bindung durch Tumor ist auch hier eine stärkere als die der Niere.

Wir lassen nun einen weiteren Versuch folgen, der sich auf die gleiche Fragestellung bezieht, aber mit einer etwas abweichenden Methodik angestellt ist.

Versuch 9 vom 12. VI. 13.

Serum des mit Tumor immunisierten Kaninchens 14 A.-E. = 0,0005 ccm. Je 1,0 ccm einer 10%igen Mäusenierenaufschwemmung und je 1,0 ccm einer 10%igen Mäusetumoraufschwemmung vom 12. VI. werden mit steigenden Serummengen 1 Stunde im Brutschrank gehalten, zentrifugiert und der klare Abguß mit 0,5 ccm 5%igem Ziegenblut und 0,05 ccm Meerschweinchenserum digeriert.

Serummenge	A Mäuseniere	B Mäusetumor
30 A.-E.	m.—w.	0
40 „	st.—m.	0
50 „	k.	Sp.
60 „	k.	Sp.

Auch hier bindet Niere und Tumor das Tumorkaninchenserum, aber die stärkere Bindungsfähigkeit der Tumorzellen tritt noch deutlicher zutage. Während 0,1 g Mäuseniere 40 bis 49 A.-E. banden, werden von 0,1 g Tumor sicher weit mehr als 60 A.-E. festgehalten.

Es ergibt sich aus den Versuchen 1 bis 9, daß beide Amboceptoren, sowohl der durch Nierenzellen wie der durch Tumorzellen erzeugte Amboceptor, von beiden Zellarten in erheblichem Maße gebunden werden.

Hieraus folgt zweifellos die wichtige Tatsache, daß zwischen Nierenzellen und Tumorzellen eine weitgehende Receptorengemeinschaft besteht.

Was die hier zutage tretenden quantitativen Unterschiede in der Bindung betrifft, so werden beide Arten von Amboceptoren in unseren Versuchen von den Tumorzellen in einem Teil der Versuche stärker gebunden, und zwar ist dies bei dem Tumoramboceptor in höherem Maße der Fall.

Die Deutung dieser Beobachtung im Sinne einer höheren Avidität der Tumoramboceptoren dürfte jedoch aus den oben diskutierten Gründen (s. S. 88) kaum zulässig sein.

Wir lassen jetzt noch einen Doppelversuch folgen, in dem das Bindungsvermögen des Ziegenblutes für ein Nieren-Tumorserum mit dem des Tumors verglichen wird.

Versuch 10 vom 25. V. 13.

Serum des mit Mäuseniere immunisierten Kaninchens 6. A.-E. = 0,006 ccm. A. 2,5 ccm 10%ige Mäusetumoraufschwemmung vom 16. V. B. 2,5 ccm 10%ige Ziegenblutaufschwemmung vom 20. V. Zu jeder der beiden Zellsuspensionen werden 1,2 ccm Serum = 200 A.-E. zugesetzt und der Versuch wie vorn weitergeführt.

Abgußmenge	A Mäusetumor	B Ziegenblut
0,5 = 28 A.-E.	k.	Spürchen
1,0 $^1/_{10}$ = 6 "	st.	0
0,5 = 3 "	st.	0
0,25 = $1^1/_2$ "	m.	0
0 =	0	0

Gleichzeitig wird ein Bindungsversuch mit dem Serum des Tumorkaninchens 11 angesetzt. A.-E. = 0,002 ccm.

Dieselben Zellaufschwemmungen wie oben werden mit 0,4 ccm Serum = 200 A.-E. digeriert und der Versuch in der üblichen Weise beendet.

Abgußmenge	A Mäusetumor	B Ziegenblut
1,0 $^1/_{10}$ = 7 A.-E.	m.	Spürchen
0,5 = $3^1/_2$ "	m.—w.	0
0,25 = $1^3/_4$ "	w.	0

Wiederum zeigt es sich, daß Tumorzellen sowohl die durch Tumorbehandlung gewonnenen Ziegenbluthämolysine binden, als auch die durch Niereninjektion hergestellten. Gleichzeitig aber geht aus der Tabelle hervor, daß, wie wir das in den Vorversuchen teilweise bereits konstatieren konnten, auch Ziegenblut die hämolytischen Amboceptoren der Mäusenieren- und Tumorsera bindet. Das Tumorserum verhält sich also dem Ziegenblut gegenüber im Bindungsversuch ebenso wie das Nierenserum. Auch hier ist kein Unterschied zwischen Tumor- und Organzelle zu ermitteln.

Versuch 11 vom 28. IV. 13.

In dem folgenden Versuch sollte untersucht werden, ob Nieren- und Tumorserum dann, wenn man ihm gleichzeitig

Ziegenblut und eines der beiden Organe zur Bindung anbietet, sich für das Ziegenblut oder die Organzellen entscheidet.

A. Zu diesem Zweck werden Mengen des Nierenserums 4 und des Tumorserums 10, die 1, 2 und 3 A.-E. entsprechen, gleichzeitig mit 0,5 ccm 5%igen Ziegenblutes und 0,25 ccm 10%iger Mäusenieren resp. Tumoraufschwemmung vom 25. IV. versetzt. Nach 1stündigem Aufenthalt im Brutschrank wurde jedem Röhrchen 0,1 ccm Meerschweinchenserum zugesetzt und nach weiteren 3 Stunden die Hämolyse abgelesen.

A. Versuch mit Nierenserum 4.

Serummenge	Zusatz von Mäuseniere	Zusatz von Mäusetumor
0,5 $^1/_{100}$ = 1 A.-E.	k.	k.
1,0 = 2 „	k.	k.
1,5 = 3 „	k.	k.

Selbst bei Darbietung von nur einer A.-E. ist das Ziegenblut in beiden Fällen komplett gelöst worden. Daraus geht hervor, daß Niere und Tumor von dem verwendeten Immunserum nichts oder doch fast nichts gebunden haben. Bei gleichzeitiger Verwendung von Ziegenblut einerseits und Nieren- oder Tumorzellen andererseits haben sich also die Amboceptoren des Nierenserums für das Ziegenblut entschieden. Das Ziegenblut hatte eine stärkere Avidität zu den Lysinen des Nierenserums als Tumor und selbst Niere.

Ganz analog verlief ein Versuch mit dem Tumorserum 10.

Serummenge	Zusatz von Mäuseniere	Zusatz von Mäusetumor
0,4 $^1/_{100}$ = 1 A.-E.	k.	k.
0,8 $^1/_{100}$ = 2 „	k.	k.
1,2 $^1/_{100}$ = 3 „	k.	k.

Auch hier haben Tumor- und Nierenzellen nichts gebunden. Das Ziegenblut hat auf die Amboceptoren des Tumorserums eine stärkere Attraktion ausgeübt als das Antigen selbst.

Als etwas stärker erwies sich die Affinität des hochwertigen Tumorserums 11 zu seinem Antigen.

Serummenge	Zusatz von Mäusetumor
0,05 $^1/_{100}$ = 1 A.-E.	st.
0,1 = 2 „	k.
0,15 = 3 „	k.

Eine Amboceptoreinheit hat hier nicht mehr völlige Hämolyse bewirken können, ist also nicht ganz an das Blut gebunden worden. Der zugesetzte Tumor hat demnach einen Teil des zugesetzten Amboceptors für sich beansprucht.

Bei Zusatz von zwei lösenden Dosen ist dagegen bereits wieder komplette Hämolyse eingetreten, der Tumor hat höchstens die Hälfte = 1 A.-E. gebunden. Die Affinität der als Antigen benutzten Tumorzellen zu dem Amboceptor ist also hier höchstens der des Ziegenblutes gleich, wahrscheinlich jedoch kleiner.

Da also die Amboceptoren der Mäuseorgankaninchensera eine stärkere Tendenz haben, sich mit den Ziegenblutkörperchen zu verbinden als mit den Mäuseorganen, so war anzunehmen, daß jene auch imstande sind, bereits an Mäuseorgane gebundene Amboceptoren anzuziehen. Es konnte daher im Transgressionsversuch die Frage beantwortet werden, ob Tumor- und Nierenzellen die gebundenen Lysine gleich stark festhalten. Die folgenden Versuche sind die Fortsetzung der oben angeführten Bindungsversuche und mit den dort erhaltenen abgesättigten Organzellen angesetzt.

III. Transgressionsversuche.

Zu den Transgressionsversuchen wurden Nieren- und Tumorzellen der Maus verwendet, welche die entsprechenden Amboceptoren verankert hatten. Über das Maß der stattgehabten Bindung und über die Stärke der Amboceptoren geben die Protokolle der zugehörigen Bindungsversuche Auskunft, auf die hingewiesen wird.

Das durch Zentrifugieren gewonnene Zellsediment wurde von der überstehenden Flüssigkeit sorgfältig befreit und, wenn der Versuch erst am folgenden Tage angestellt werden sollte, mit Kochsalzlösung überschichtet und im Eisschrank aufbewahrt. Nach einmaligem Waschen wurde es auf das frühere Volumen aufgefüllt und aufgeschüttelt. Von dieser Suspension wurden fallende Mengen mit 0,5 ccm 5%igen Ziegenblutes 1 Stunde im Brutschrank unter häufigem Umschütteln gehalten und dann 0,1 ccm Meerschweinchenserum zugesetzt. Nach einem weiteren Verbleib von 2 Stunden im Brutschrank wurden die Röhrchen über Nacht in den Eisschrank gesetzt.

Daß den amboceptorbeladenen Zellsuspensionen allein ein Lösungsvermögen nicht zukommt, geht aus den folgenden Kontrolluntersuchungen hervor.

A. Je 5 ccm einer 10$^0/_0$igen Mäusenieren- und einer 10$^0/_0$igen Mäusetumoraufschwemmung werden mit 0,4 ccm Serum des Nierentieres 5 = 100 A.-E. versetzt, 1 Stunde im Brutschrank gehalten, zentrifugiert. Die abzentrifugierten Organzellen werden im Eisschrank bis zum nächsten Tage aufbewahrt, mit NaCl gewaschen und dann 5 ccm NaCl zugesetzt. Fallende Mengen dieser Zellsuspension werden im Brutschrank 1 Stunde mit 0,5 ccm 5$^0/_0$igem Ziegenblut im Volumen 1,5 ccm digeriert.

Menge der Zellsuspension	a) Mäuseniere	b) Mäusetumor
1,0	0	0
0,5	0	0
0,25	0	0

B. In analoger Weise wird Mäusenieren- und Mäusetumor-Aufschwemmung mit 0,2 ccm Serum des Tumortieres 9 abgesättigt. Die gewaschenen Organzellen werden mit Kochsalz auf das Volumen 5,0 ccm gebracht und ihr Lösungsvermögen für 0,5 ccm 5$^0/_0$iges Ziegenblut geprüft.

Menge der Zellsuspension	Mäuseniere	Mäusetumor
1,0	0	0
0,5	0	0
0,25	0	0

Mäusenieren- und Mäusetumorzellen können also nach ihrer Behandlung mit Mäusenieren-Kaninchenserum 5 und Mäusetumor-Kaninchenserum 9 in Mengen von 0,25 bis 1,0 ccm Ziegenblut nicht lösen.

I. Versuche mit Nierenserum.

Transgressionsversuch 1 vom 6. V. 13.

Zu diesem Versuch werden die aus dem Bindungsversuch 1 gewonnenen, mit Amboceptor des Nierenkaninchens 6 beladenen Sedimente von Mäusenieren und Mäusetumor verwendet. 1 A.-E. dieses Nierenserums betrug 0,008 ccm; die Gesamtmenge = 2,5 ccm der 10$^0/_0$igen Organsuspensionen hatte von 150 A.-E. mehr als die Hälfte gebunden Die beim Zentrifugieren gewonnenen Sedimente wurden unter Kochsalzlösung im Eisschrank bis zum folgenden Tag aufbewahrt, einmal gewaschen und mit 2,5 ccm Kochsalzlösung aufgeschüttelt. Dadurch betrug das Volumen sehr wenig mehr als vor Beginn des Bindungsversuches.

Fallende Mengen dieser Zellaufschwemmungen wurden nun mit 0,5 ccm 5$^0/_0$igem Ziegenblut 1 Stunde im Brutschrank gehalten; dann wurde 0,1 ccm Meerschweinchenserum zugegeben und abermals 2 Stunden bei 38° digeriert.

Die mit dem Serum des Nierenkaninchens 6 vorbehandelten Nieren- und Tumorsuspensionen ergaben dabei folgendes Resultat:

Suspensionsmenge ccm	Hämolyse Mäuseniere	Mäusetumor
1,0	k.	k.
0,5	k.	k.
0,3	k.	k.
0,2	f. k.	k.
0,1	w.	k.
0,05	s. w.	f. k.
0	0	

Beide Zellsuspensionen haben also einen erheblichen Teil der gebundenen Amboceptoren festgehalten gegenüber dem Ziegenblut. 0,3 bis 0,2 ccm der Nierensuspension ist die kleinste Dosis, die noch eine Amboceptoreinheit auf das zugesetzte Ziegenblut übergehen läßt (gebunden 9 bis 6 A.-E.). Dagegen geht bei der Tumoremulsion noch bei 0,1 bis 0,05 ccm (gebunden 3 bis $1^1/_2$ A.-E.) eine lösende Dosis über. Da nun beide Zellarten aus dem dargebotenen Serum etwa gleichviel Amboceptor gebunden hatten, so geht aus der Tabelle hervor, daß die Niere die Hämolysine des Nierenserums fester gehalten hat als der Tumor.

Transgressionsversuch 2 vom 24. IV. 13.

Der Versuch wird angesetzt mit den Zellsedimenten aus dem Bindungsversuch 2. Die Gesamtmenge der Nieren- und Tumorzellen hatte mehr als die Hälfte der dargebotenen 100 A.-E. des Nierenserums 6 gebunden (A.-E. = 0,005 ccm), der Tumor ein wenig mehr als die Niere.

Die wie im vorhergehenden Versuch behandelten Zellsuspensionen werden in fallenden Mengen mit je 0,5 ccm 5%igen Ziegenblutes 1 Stunde im Brutschrank gehalten, dann mit 0,1 ccm Meerschweinchenserum versetzt und weitere 2 Stunden im Brutschrank gelassen.

Die dann beobachtete Hämolyse gibt die folgende Tabelle an.

Suspensionsmenge ccm	Mäuseniere	Mäusetumor
1,0	k.	k.
0,5	k.	k.
0,3	k.	k.
0,2	f. k.	k.
0,1	m.	m.

Die letzte lösende Dosis der Nierensuspension war demnach 0,3 bis 0,2 ccm (gebunden ca. 6 A.-E.), die der Tumorensuspension 0,2 ccm (gebunden ca. 6. A.-E.). Nieren- und Tumorzellen halten also in diesem Versuch das Nierenserum etwa gleich stark fest.

Transgressionsversuch 3 vom 24. IV. 13.

Die Zellsedimente aus dem Bindungsversuch 4 hatten über die Hälfte der Amboceptoren des dargebotenen Nierenserums 1 gebunden (A.-E. = 0,02 ccm), und zwar wiederum Tumor etwas mehr als Niere. Sie werden wie in den beiden vorausgehenden Versuchen mit Kochsalzlösung gewaschen und aufgeschüttelt. Fallende Suspensionsmengen werden mit 0,5 ccm 5%igen Ziegenbluts 1 Stunde im Brutschrank gehalten und dann nach Zusatz von 0,1 ccm Meerschweinchenserum noch 2 Stunden dort gelassen. Die dann abgelesene Hämolyse gibt die folgende Tabelle an:

Suspensionsmenge ccm	Mäuseniere	Mäusetumor
1,0	k.	k.
0,5	k.	k.
0,25	m.	k.
0,1	w.	k.

0,5 ccm der Nierensuspension, enthaltend ca. 10 A.-E., war demnach die letzte komplett lösende Dosis, während von der Tumorsuspension auch 0,1 ccm, enthaltend ca. 2 bis 3 A.-E., noch völlig löste. Die Nierenzellen haben also die Amboceptoren des Nierenserums 1 fester gehalten als die Tumorzellen.

II. Versuche mit Tumorseren.

Transgressionsversuch 4 vom 26. IV. 13.

Die in dem Bindungsversuch 7 gewonnenen Zellsedimente werden gewaschen, mit Kochsalzlösung aufgefüllt und am nämlichen Tage verwendet. Die Gesamtmenge der Nierenzellen hatte dort von den dargebotenen 200 A.-E. (A.-E. = 0,0005 ccm) des Tumorserums 11 ca. $^3/_4$ gebunden, die Tumorzellen ca. $^{19}/_{20}$.

Fallende Suspensionsmengen werden mit 0,5 ccm 5%igen Ziegenbluts 1 Stunde im Brutschrank gehalten, dann mit 0,1 ccm Meerschweinchenserum versetzt und weitere 2 Stunden dort gelassen.

Die dann beobachtete Hämolyse gibt die folgende Tabelle an:

Suspensionsmenge ccm	Mäuseniere	Mäusetumor
1,0	k.	f. k.
0,5	k.	m.—w.
0,3	k.	w.
0,2	k.	—
0,1	m.	—
0,05	m.—w.	—

0,2 ccm der Niersensuspension, enthaltend ca. 12 A.-E., ist also die letzte komplett lösende Dosis; dagegen löst 1,0 ccm von der Tumorsuspension, enthaltend ca. 76 A.-E., nur fast komplett. Die Tumorzellen halten demnach das hochwertige Tumorserum 11 bedeutend fester als Nierenzellen.

Transgressionsversuch 5 vom 5. V. 13.

Die Zellsedimente aus dem Bindungsversuch 5 werden im Eisschrank bis zum folgenden Tag verwahrt und dann mit Kochsalzlösung wie im vorhergehenden Versuch behandelt. Nieren- und Tumorzellen hatten von den 300 A.-E. des Tumorserums 1 (A.-E. = 0,002 ccm) etwas mehr als die Hälfte gebunden.

Die mit fallenden Suspensionsmengen genau wie im vorhergehenden Versuch angestellte Einstellung ergab folgendes Resultat.

Suspensionsmenge ccm	Mäuseniere	Mäusetumor
1,0	k.	k.
0,5	k.	k.
0,3	k.	m.
0,2	f. k.	Spur
0,1	m.	Spur
0	0	0

0,2 bis 0,3 ccm der Nierensuspension, enthaltend ca. 14 bis 21 A.-E., ist also die kleinste lösende Dosis. Dagegen betrug diese für die Tumorsuspension 0,5 ccm, enthaltend ca. 30 A.-E.

Auch hier haben also die Tumorzellen die Tumoramboceptoren fester gehalten als Nierenzellen.

Transgressionsversuch 6 vom 24. IV. 13.

Zum Versuch werden die mit je 100 A.-E. des Tumorserums 10 behandelten Zellsedimente aus dem Bindungsversuch 6 verwendet (A.-E. = 0,006 ccm).

Die Nierenzellen hatten zirka die Hälfte, die Tumorzellen etwas mehr gebunden. Die Sedimente werden, wie in den früheren Versuchen, im Eisschrank verwahrt, gewaschen, mit Kochsalzlösung aufgeschwemmt und fallende Suspensionsmengen in der beschriebenen Weise mit Ziegenblut versetzt.

Die dabei beobachtete Hämolyse gibt die folgende Tabelle an:

Suspensionsmenge ccm	Mäuseniere	Mäusetumor
1,0	k.	k.
0,5	k.	k.
0,25	k.	k.
0,1	f. k.	k.

Die letzte komplett lösende Dosis der Nierensuspension ist 0,25 bis 0,1 ccm (gebunden ca. 5 bis 2 A.-E.), 0,1 ccm der Tumorsuspension (gebunden mehr als 2 A.-E.) hat ebenfalls komplett gelöst.

Nieren- und Tumorzellen haben also das Tumorserum 10 ungefähr gleich fest gehalten.

Aus den geschilderten Transgressionsversuchen geht hervor, daß Tumorzellen die durch Immunisierung mit Nierenzellen entstandenen Amboceptoren weniger festhalten und in höherem Grad an Ziegenblutkörperchen abgeben als Nierenzellen. Die durch Immunisierung mit Tumorzellen erhaltenen Amboceptoren werden von Tumorzellen ebenso stark oder stärker festgehalten als von Nierenzellen; der charakteristische Unterschied ist am ausgesprochensten bei hochwertigen Sera und tritt bei der spontanen Abschwächung der Amboceptorsera zurück. Es besteht also in der Bindungsfestigkeit der Amboceptoren gegenüber homologen und heterologen Zellen ein Unterschied, der durch die Herkunft des Antigens bedingt ist.

Es dürfte gewagt erscheinen, auf Grund der vorliegenden Versuche weitgehende Schlüsse zu ziehen. Immerhin ist es wahrscheinlich, daß eine völlige Identität der durch Tumorantigen einerseits, durch Nierenantigen andererseits ausgelösten Amboceptoren nicht besteht, daß vielmehr die gesamte Schar der Amboceptoren, die sämtlich passende Receptoren in den Ziegenbluterythrocyten finden, je nach dem Antigen, das zu ihrer Entstehung führte, in bestimmte Gruppen von Partialamboceptoren gesondert werden kann. Es ist anzunehmen, daß die Unterschiede entweder in der Avidität bei identischen cytophilen Gruppen oder in Differenzen der cytophilen Gruppen selbst bestehen, die darauf hinweisen, daß Tumorzellen und gewisse Organzellen einer und derselben Tierart verschiedene Receptoren besitzen, die durch ihre gemeinschaftliche Beziehung zu den Receptoren des Ziegenblutes eine Art Einheit bilden.

Über die Geschwindigkeit der Alkoholresorption und -Oxydation durch den an Alkohol gewöhnten, bzw. durch den nicht daran gewöhnten tierischen Organismus.

Die Beteiligung des Alkohols am Gesamtstoffwechsel.

Von

Wilhelm Völtz und Walter Dietrich.

(Aus der ernährungsphysiologischen Abteilung des Instituts für Gärungsgewerbe der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 3. September 1914.)

Mit 1 Figur im Text.

Über diesen Gegenstand liegen bereits einige Untersuchungen vor.

Gréhant[1]) bestimmte den Alkoholgehalt des Blutes zu verschiedenen Zeiten nach der Alkoholzufuhr. Bei Dosen von 1 ccm pro Körperkilogramm konnten nach $6^1/_2$ Stunden noch Spuren an Alkohol nachgewiesen werden. Bei Gaben von 2 ccm pro Körperkilogramm fanden sich nach 9 Stunden noch 0,02 Volumprozent Alkohol im Blut. Bei toxischen Dosen von 5 ccm pro Kilogramm wurden nach 5 Stunden 0,5%, nach $14^1/_2$ Stunden noch 0,068%, und erst nach 20 Stunden kein Alkohol mehr gefunden. Nemser[2]) hat mit Hilfe der Polyfistelmethode von E. S. London genauer untersucht, in welchen Abschnitten des Verdauungstraktus die Resorption des Alkohols vor sich geht. Er fand, daß in der Mundhöhle nur minimale Mengen Alkohol resorbiert werden (Selbstversuch). Vom Hunde wurden im Magen rund 21%, im Duodenum 9%, im Jejunum rund 53% und im Ileum rund 18% resorbiert. Über die Zeit, die bis zur vollständigen Resorption des Alkohols verstreicht, lassen die Arbeiten Nemsers keinen Schluß zu.

Pringsheim[3]) experimentierte hauptsächlich an Ratten. Er spritzte

---

[1]) N. Gréhant, Nouvelles recherches sur l'alcoolisme aigu. Compt. rend. Soc. Biol. **52**, 894, 1900.

[2]) M. H. Nemser, Zum Chemismus der Verdauung im tierischen Organismus. XIV. Mitteilung: Über das Verhalten des Alkohols im Verdauungstraktus. Zeitschr. f. physiol. Chem. **53**, 356, 1907.

[3]) J. Pringsheim, Chemische Untersuchungen über das Wesen der Alkoholtoleranz. Diese Zeitschr. **12**, 143. 1908.

den Tieren mittels Pravazspritze alkoholische Lösungen in den Magen, brachte sie in einen Glaskolben und saugte mit der Luftpumpe kontinuierlich Luft durch den Kolben und eine Anzahl Vorlagen, die mit destilliertem Wasser gefüllt waren. Zuletzt war eine Bichromat-Schwefelsäure-Vorlage eingeschaltet zur Absorption ev. noch übergehender Alkoholmengen. Der Alkohol wurde nach der Methode von Nicloux bestimmt, und zwar für Harn und Atmung zusammen. Zwecks Ermittelung der im Körper enthaltenen reduzierenden Stoffe wurden einige Ratten destilliert und von Kaninchen einige Organe.

Im Organismus der Ratten, die keinen Alkohol erhalten hatten, fand der Autor im Mittel pro Kilogramm eine 0,035 ccm Alkohol entsprechende Quantität reduzierender Stoffe. Dieser Wert ist wesentlich niedriger als der von uns in Hundekadavern ermittelte (0,122 ccm). In den Organen der Kaninchen wurden 0,218 ccm pro Kilogramm an reduzierenden Stoffen ermittelt, also ungefähr die 6fache Quantität des obigen Wertes an Ratten.

Pringsheim führte seine Versuche sowohl an Tieren aus, die an Alkohol gewöhnt waren, als auch an solchen, die noch keinen Alkohol erhalten hatten. Einige seiner Befunde, die mit immerhin sehr kleinen Alkoholmengen an kleinen Tieren erhalten wurden, stehen im Widerspruch mit Ergebnissen, die mit größeren Alkoholmengen und unter günstigeren Versuchsbedingungen an größeren Tieren von uns erhalten wurden. Pringsheim gelangt beispielsweise zu dem Schluß, daß an Alkohol gewöhnte und nicht gewöhnte Tiere die gleiche Menge Alkohol durch die Nieren, die Lunge und die Haut ausscheiden (l. c. S. 191). In Wirklichkeit verhält sich, wie der eine von uns[1]) nachgewiesen hat, die Sache so, daß das an Alkohol nicht gewöhnte Tier ceteris paribus viel größere Quantitäten sowohl durch die Atmung als auch durch die Nieren sezerniert als das gewöhnte. Daß das auch gar nicht anders sein kann, ergibt sich aus der Tatsache, daß die nervösen und die diuretischen Wirkungen des Alkohols stärker bei dem nicht gewöhnten Tier in die Erscheinung treten als bei dem an Alkohol gewöhnten. Die Beschleunigung der Atmung und die stärkere Diurese beim nicht gewöhnten Tier müssen auch eine vermehrte Alkoholausscheidung zur Folge haben. Auf einen weiteren unzutreffenden Befund Pringsheims werden wir später noch eingehen. Im übrigen gelangte Pringsheim zu folgenden wesentlichsten Ergebnissen: „An Alkohol gewöhnte Tiere verbrennen den Alkohol schneller als nicht daran gewöhnte Tiere (in etwa $^2/_3$ der Zeit). Der Prozentsatz des Körpers an Alkohol bei akuter Alkoholvergiftung erreicht bei den nicht gewöhnten Tieren höhere Werte als bei den gewöhnten (ca. 66$^0/_0$ mehr). Die Verbrennung des Alkohols findet bei den nicht gewöhnten Tieren wahrscheinlich im wesentlichen in der Leber statt; bei den an Alkohol gewöhnten ebenfalls am stärksten

---

[1]) Wilhelm Völtz und Aug. Baudrexel, Über die vom tierischen Organismus unter verschiedenen Bedingungen ausgeschiedenen Alkoholmengen. Arch. f. d. ges. Physiol. 138, 85 bis 133, 1911.

in der Leber, fast ebenso stark im Herzmuskel, weniger intensiv im Ge irn.

Die Gewöhnung an Alkohol beruht wenigstens zu einem erheblichen Teil auf einer schnelleren Oxydation des Giftes durch den Organismus."

Abélous, Bardier und Ribaut[1]) bestimmten die Verbrennungsdauer bei Kaltblütern und Warmblütern (Frosch und Meerschweinchen). Sie erhielten folgende Resultate:

I. Versuche am Meerschweinchen (der Alkohol wurde in 10- oder 20%iger Lösung in das Peritoneum injiziert).

Versuch Nr.	Gesamte eingegebene Alkoholmenge ccm	Pro Kilogramm Tier ccm	Versuchsdauer Std.	Ausgeschiedener Alkohol ccm	Alkohol im Tierkörper wiedergefunden ccm
1	1,0	3,1	8	0,130	0,000
2	1,0	2,0	8	0,150	0,040
3	0,5	1,0	7	0,025	0,025

Die Geschwindigkeit der Alkoholverbrennung differiert nach den vorstehenden Befunden an Meerschweinchen für verschiedene Alkoholmengen nicht erheblich. Nach einer Dosis von 1 ccm pro Kilogramm wurden nach 7 Stunden noch 0,025 ccm im Kadaver wiedererhalten, während eine Alkoholquantität von 3,1 ccm pro Koligramm nach 8 Stunden bereits verbrannt war.

II. Versuche mit 20%igen alkoholischen Lösungen an Fröschen.

Versuch Nr.	Gesamtmenge des eingegebenen Alkohols ccm	Alkohol pro Kilogramm ccm	Versuchsdauer Tage	Wiedergefundener Alkohol ccm
1	1,00	50,0	2	0,94
2	1,00	21,0	4	0,91
3	0,25	3,5	7	0,00
4	0,25	3,0	7	0,00

Die vorstehenden Versuche lassen keinen Schluß über die Geschwindigkeit der Alkoholresorption zu.

Wir haben unsere Versuche sämtlich an Hunden ausgeführt. Es wurden an Alkohol gewöhnte und auch nicht

---

[1]) E. Abélous, E. Bardier et H. Ribaut, Destruction et élimination de l'alcool éthylique dans l'organisme de l'animal. Compt. rend. Soc. Biol. 55, 420, 1903.

daran gewöhnte Tiere benutzt. Nach Zufuhr genau bestimmter Alkoholmengen wurden an den mit Harntrichter und Maske ausgerüsteten bzw. bei Ruheversuchen zum Teil auch in den Respirationsapparat gebrachten Tieren innerhalb bestimmter Zeiten (1, 2, 3, 10 und 15 Stunden) die durch Atmung und Nieren bei Ruhe und Laufarbeit ausgeschiedenen Alkoholmengen bestimmt. Nach Ablauf der festgesetzten Zeit wurden die Hunde durch Injektion einer Cyankaliumlösung in die Lunge getötet und nach Entnahme von Magen und Darm und ev. anderer Organe, die gesondert auf Alkohol untersucht wurden, so lange mit Wasser destilliert, bis reduzierende Stoffe nicht mehr in das Destillat übergingen. Die Ergebnisse der 1-, 2- und 3stündigen Versuche über die Verwertung des Alkohols bei Ruhe und Muskelarbeit sollen in einer besonderen Arbeit mitgeteilt werden.

Zum Nachweis des Alkohols benutzten wir die früher schon vielfach von uns angewandte Nicloux sche Methode. Bevor wir an die eigentlichen Versuche gingen, mußten wir 1. den Gehalt des Tierkörpers an reduzierenden Stoffen bei alkoholfreiem Regime untersuchen und 2. die Genauigkeit der Methodik dadurch prüfen, daß wir feststellten, ob genau bestimmte Quantitäten per os eingeführten Alkohols nach sofortiger Tötung des Tieres möglichst restlos wiedererhalten werden. Bezüglich unserer Methodik bemerken wir folgendes:

Innerhalb 24 Stunden vor Beginn der Versuche hatten die Tiere mit wenigen Ausnahmen kein Futter und Wasser erhalten. Sie wurden während dieser Zeit im Laboratorium in einen Käfig eingesperrt. Kurz vor der Versuchsanstellung wurden die Hunde zunächst mit Seife und dann mit reinem Leitungswasser gewaschen und, wenn sie langhaarig waren, vor der Waschung geschoren.

Die Destillation erfolgte möglichst schnell nach der Tötung. Wir bedienten uns eines kupfernen, innen verzinnten Destillierkolbens (Fig. 1 *C*) von ca. 25 l Inhalt. Der untere Teil hatte eine sehr weite Öffnung, auf die ein Aufsatz mit 2 Ansatzrohren aufgeschraubt werden konnte (Fig. 1 *F*). Das eine Ansatzrohr führte zu einem Liebigkühler (Fig. 1 *H*) mit Metallrohr an Stelle des gläsernen Destillierrohres zwecks schnellerer Kondensierung des Destillats. Ein zweites Ansatzrohr (Fig. 1 *G*)

diente zum Nachfüllen von Wasser. Fig. 1 *E*. Asbestmantel zwecks Verminderung der Wärmeabgabe. Fig. 1 *B*. Holzkeile. Fig. 1 *D*. Flüssigkeitsniveau in der Blase. Das Destillat wurde in einen Glasballon von ca. 40 kg Inhalt (Fig. 1 *J*) geleitet, der auf einer Brückenwage stand, um jederzeit das Gewicht der überdestillierten Flüssigkeit feststellen zu können. Die Destillation wurde stets so lange fortgesetzt, bis wir keine Spuren

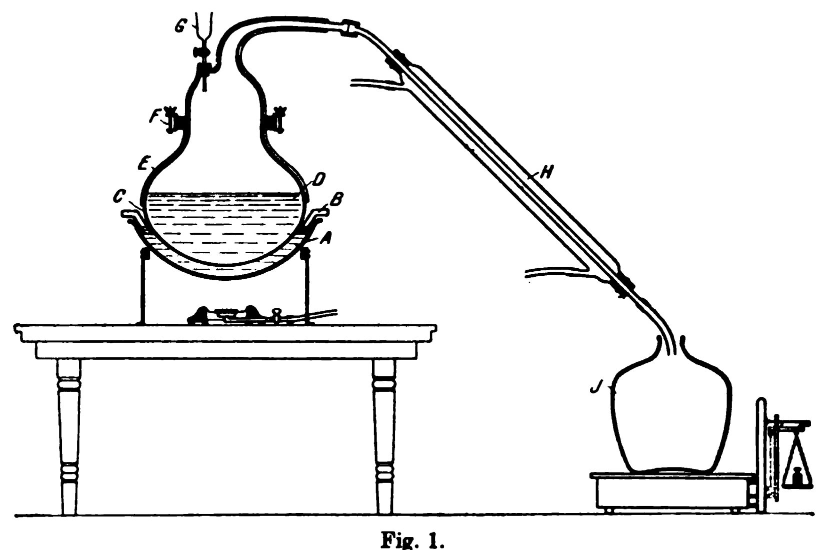


Fig. 1.

reduzierender Stoffe in entnommenen Proben mehr nachweisen konnten. Wir mußten bei unseren 10 kg schweren Hunden 30 bis 50 kg abdestillieren, bis dieser Punkt erreicht war. Jede Destillation nahm mehrere Tage in Anspruch. Als Desinfiziens wurde dem Destillat Fluornatrium zugesetzt.

Bei unseren ersten Versuchen destillierten wir über freier Flamme und brachten, um ein Anbrennen des Kadavers zu verhindern, einen Einsatz aus Drahtnetz auf den Boden der Destillierblase. Später versenkten wir den Kolben zu $^1/_3$ in ein Ölbad (Fig. 1 *A*), das wir bei einer Temperatur von ca. 160° halten mußten, um die Flüssigkeit zum Destillieren zu bringen.

Aliquote Teile der ursprünglichen Destillate wurden abgewogen und noch zweimal, und zwar nacheinander sauer und alkalisch, destilliert, um andere reduzierende Stoffe, insbesondere flüchtige Fettsäuren, zurückzuhalten.

A. Untersuchungen über den Gehalt des Tierkörpers an reduzierenden Stoffen.

Wir haben in den Kadavern dreier Hunde, die nie Alkohol erhalten hatten, die Mengen reduzierender Stoffe bestimmt und außerdem auf eine Anregung Durigs auch untersucht, ob die Menge der reduzierenden Stoffe nach 2stündiger Laufarbeit (4,22 km pro Stunde) verändert ist im Vergleich zur Ruhe. Nachstehend die Resultate:

Versuch 1 am 23. V. 1911.

Die zu diesem Versuch benutzte Hündin wog 7 kg.

Gehalt an reduzierenden Stoffen, berechnet auf Äthylalkohol:

im Magen	0,030 ccm
„ Darm	0,023 „
in den übrigen Organen (8,455 kg Destillat) .	0,112 „
insgesamt	0,165 ccm,

bzw. pro 1 Körperkilogramm 0,0236 ccm.

Versuch 2 am 25. VI. 1913.

Gewicht des Hundes 6,25 kg.

Gehalt an reduzierenden Stoffen in den verschiedenen Organen, auf Alkohol berechnet:

im Magen	0,04 ccm
„ Darm	0,05 „
in der Leber	0,03 „
„ den übrigen Organen (20,4 kg Destillat) . .	0,78 „
insgesamt	0,90 ccm,

bzw. pro 1 Körperkilogramm 0,144 ccm.

Versuch 3 am 10. VII. 1913.

Gewicht des Hundes 7 kg. Bei diesem Versuch wurde der Kadaver unzerstückelt destilliert.

Destillat 17,2 kg. Hierin enthalten: 1,05 ccm Alkohol entsprechende Menge reduzierender Stoffe,

bzw. pro 1 Körperkilogramm 0,150 ccm.

Versuch 4 am 8. IX. 1913.

Gewicht des Hundes 6,7 kg.

Kadaver unzerstückelt destilliert.

Destillat 28,0 kg. Hierin enthalten eine 0,60 ccm Alkohol entsprechende Menge reduzierender Stoffe,

bzw. pro 1 Körperkilogramm 0,090 ccm.

Versuch 5 am 29. X. 1913.

Gewicht des Hundes 12,4 kg.

Bevor das Tier getötet wurde, mußte dasselbe innerhalb 2 Stunden 80 Minuten auf horizontaler Bahn (Tretbahn) laufen. Auf je 10 Minuten

Laufarbeit folgten 5 Minuten Ruhepause. Die Stundengeschwindigkeit betrug 6,33 km, so daß die in den 80 Minuten Laufarbeit zurückgelegte Wegstrecke 8,440 km betrug.

Aus dem Kadaver wurden 39,35 kg Destillat gewonnen mit einer 1,27 ccm Alkohol entsprechenden Menge reduzierender Stoffe,

bzw. pro 1 Körperkilogramm **0,102** ccm.

Wenn wir die Resultate der einzelnen Versuche überblicken, so fallen nur die Daten des ersten Versuches mit 0,0236 ccm pro 1 kg Lebendgewicht aus der Reihe. Wir haben aus dem betreffenden Kadaver nur 8,455 kg Destillat gewonnen und haben möglicherweise die Destillation nicht lange genug fortgesetzt. Allerdings hatten wir in einer Probe des letzten Destillats kaum mehr reduzierende Stoffe nachweisen können. Immerhin erheischt die Unstimmigkeit dieses ersten Versuches gegenüber den 4 späteren und die Tatsache, daß wir später stets das Mehrfache an Destillat gewinnen mußten, bevor sämtliche reduzierende Stoffe erhalten wurden, daß der Versuch 1 ausgeschaltet werden muß[1]).

Was den Gehalt an reduzierenden Stoffen nach Muskelarbeit betrifft, so ist derselbe, wie aus den Daten des Versuchs 5 hervorgeht, nur unerheblich abweichend von den bezüglichen Zahlen der Versuche 2 bis 4 und keinesfalls gegenüber letzteren erhöht. Wir haben daher auch diesen Versuch bei Berechnung der Mittelwerte mit einbezogen. Der durchschnittliche Gehalt an reduzierenden Stoffen für die in Betracht kommenden 4 Versuche (Nr. 2, 3, 4 und 5) beträgt pro 1 Körperkilogramm eine **0,122** ccm Alkohol entsprechende Quantität.

---

[1]) In einer früheren Publikation haben wir bereits über einige Befunde bezüglich der Geschwindigkeit der Alkoholoxydation in den tierischen Geweben berichtet (W. Völtz und W. Dietrich, Die Beteiligung des Methylalkohols und des Äthylalkohols am gesamten Stoffumsatz im tierischen Organismus. Diese Zeitschr. **40**, 15 bis 28, 1912). Es lag damals erst dieser erste Versuch über den Gehalt des Tierkörpers an reduzierenden Stoffen bei alkoholfreiem Regime vor, und der Befund, daß nur minimale Mengen reduzierender Substanzen vorhanden waren, hatte uns veranlaßt, von einer besonderen Korrektur bei den übrigens 10- und 15stündigen Alkoholversuchen abzusehen. Daß die Versuchsergebnisse hierdurch nicht wesentlich beeinflußt worden sind, zeigt ein Vergleich der Werte für die Beteiligung des Alkohols am Gesamtumsatz in der früheren Publikation und der vorliegenden Arbeit.

B. Bestimmung einer unmittelbar vor dem Tode eingeführten bekannten Alkoholmenge in den Kadavern.

Versuch 1 am 27. II. 1911.

Gewicht des Hundes 7 kg.

Alkoholzufuhr 30 ccm einer 37,84%igen Lösung, entsprechend 11,35 ccm Alkohol.

Quantität des Destillats 37,4 kg, darin enthalten

	11,127 ccm Alkohol
ab für reduzierende Stoffe .	0,854 „
also wiedererhalten	10,273 ccm = 90,4% der Zufuhr.

Versuch 2 am 3. XII. 1913.

Gewicht des Hundes 10 kg.

Alkoholzufuhr 40 ccm einer 50,92%igen Lösung, entsprechend

	20,367 ccm Alkohol
in der Schlundsonde . . .	0,160 „
wirkliche Zufuhr	20,208 ccm Alkohol

Quantität des Destillats 49,3 kg, darin enthalten

	19,63 ccm Alkohol
ab für reduzierende Stoffe .	1,22 „
wiedergefunden	18,41 ccm = 91,1% der Zufuhr.

Versuch 3 am 22. I. 1914.

Gewicht des Hundes 8 kg.

Alkoholzufuhr 40 ccm einer 50,92%igen Lösung, entsprechend

	20,368 ccm Alkohol
In der Schlundsonde . . .	0,600 „
wirkliche Zufuhr	19,768 ccm Alkohol.

Quantität des Destillats 53,5 kg, darin enthalten

	18,77 ccm Alkohol
ab für reduzierende Stoffe .	0,97 „
wiedergefunden	17,80 ccm = 90,1% der Zufuhr.

Im Mittel der drei Versuche wurden also rund 90,5% des mit der Schlundsonde eingeführten Alkohols im Kadaver wiedergefunden. Bei sämtlichen folgenden Versuchen haben wir daher den direkt gefundenen Wert mit dem Faktor $\frac{100}{90 \cdot 5} = 1{,}11$ multipliziert, was einer Erhöhung um 11% entspricht.

Der Grund dafür, daß wir den Alkohol nicht quantitativ wiedererhielten, dürfte darin zu suchen sein, daß von der Tötung

des Versuchstieres ab gerechnet bis zur Erwärmung des Kadavers auf eine Temperatur, bei der die Enzyme zerstört werden, etwa 20 bis 25 Minuten verstrichen, in welcher Zeit noch Alkohol oxydiert wird. Außerdem könnte noch in Betracht kommen, daß kleine Mengen Alkohol im Körper durch bestimmte Stoffe so festgelegt werden, daß dieselben nur sehr schwer mit Wasserdampf in das Destillat übergehen.

I.
Untersuchungen über die Geschwindigkeit der Alkoholresorption durch den an Alkohol gewöhnten und den nicht daran gewöhnten Organismus.

C. Zwei einstündige Versuche an ungewöhnten Tieren.

Versuch 1 am 18. III. 1911.

Als Versuchstier diente ein 5,17 kg schwerer, 1¹/₄ Jahr alter Hund. Die Alkoholzufuhr betrug 26,5 ccm einer 37,84 %igen alkoholischen Lösung, entsprechend 10,03 ccm absoluten Alkohols oder 1,94 ccm pro 1 kg Lebendgewicht.

Es wurden folgende Quantitäten wiedergefunden:

im Magen + Inhalt . .	2,79 ccm Alkohol	= 27,8 %	der Zufuhr,
" Darm + Inhalt . .	0,93 " "	= 9,3 %	" "
Sa. . .	3,72 ccm Alkohol	= 37,1 %	der Zufuhr,
also resorbiert	6,31 " "	= 62,9 %	" "
im Blut	0,47 " "	= 4,6 %	" "

Versuch 2 am 22. III. 1911.

Das 6,35 kg schwere Versuchstier, eine 1¹/₄ Jahr alte Hündin aus demselben Wurf, wie der zum vorhergehenden Versuch benutzte Hund erhielt am Versuchstage 35 ccm einer 37,84 %igen Alkohollösung, entsprechend

	13,244 ccm absol. Alkohol,
in der Schlundsonde zurückgeblieben .	0,214 "
wirkliche Zufuhr	13,030 ccm absol. Alkohol,
oder pro 1 kg Lebendgewicht	2,050 " " "

Die Tötung erfolgte ebenso wie im Versuch 1 durch Verbluten.

An Alkohol wurde wiedergefunden:

im Magen + Inhalt . .	3,08 ccm Alkohol	= 23,6 %	der Zufuhr,
" Darm + Inhalt . .	0,90 " "	= 6,9 %	" "
Sa. . .	3,98 ccm Alkohol	= 30,5 %	der Zufuhr,
also resorbiert	9,05 " "	= 69,5 %	" "
im Blut	0,59 " "	= 4,5 %	" "

Tabelle I.

Mittel aus zwei Versuchen.

Alkoholzufuhr pro Körperkilogramm rund 2 ccm.

Von dem zugeführten Alkohol wurde wiedergefunden:

	Versuch 1 %	Versuch 2 %	Mittel
Im Magen + Inhalt	27,8	23,6	25,7
„ Darm + Inhalt	9,3	6,9	8,1
„ Magen-Darmkanal Sa. . .	37,1	30,5	33,8
Also resorbiert	62,9	69,5	66,2
Im Blut	4,6	4,5	4,5

Die Alkoholresorption war wesentlich größer bei dem Hund 2, da sowohl ein geringerer Prozentsatz des zugeführten Alkohols im Magen wie auch im Darm gefunden wurde. Was übrigens die Daten für den Alkoholgehalt des Magendarmkanals betrifft, so handelt es sich um den gesamten Alkohol in den genannten Organen und ihren Wandungen. Die Alkoholresorption nimmt hiernach doch beträchtliche Zeit in Anspruch, da beim ungewöhnten Hund nach 1 Stunde ca. 34 % noch nicht in die Blutbahn gelangt waren. Der Alkoholgehalt des Blutes mit rund 4,5 % der Zufuhr ist bei beiden Versuchen übereinstimmend.

D. Sechs 1 stündige Versuche an gewöhnten Tieren.

Versuch 1 am 18. II. 1911.

Ein 8,05 kg schwerer junger Hund, der seit August 1910 an Alkoholdosen von 1 ccm ansteigend bis zu 2 ccm Alkohol pro 1 kg und Tag gewöhnt war, erhielt 16,62 ccm absoluten Alkohol in ca. 40 %iger Lösung, bzw. pro Körperkilogramm 2,06 ccm Alkohol. Die Tötung erfolgte nach 60 Minuten durch Verbluten.

Es wurden wiedergefunden:

im Magen + Inhalt . .	1,43 ccm Alkohol	= 8,64 %	der Zufuhr,
„ Darm + Inhalt . .	1,31 „ „	= 7,88 %	„ „
Sa. . .	2,74 ccm Alkohol	= 16,52 %	der Zufuhr,
also resorbiert	13,88 „ „	= 83,48 %	„ „
im Blut	1,02 „ „	= 6,13 %	„ „

Versuch 2 am 7. III. 1911.

Als Versuchstier diente eine $1^1/_4$ Jahr alte Hündin, die am Tage des Versuchs 12,8 kg wog. Das seit August 1910 an Alkoholdosen von

10 bis 20 ccm gewöhnte Tier erhielt am Versuchstage 60 ccm der 37,84%igen alkoholischen Lösung gleich

	22,704 ccm Alkohol,
Rückstand in der Schlundsonde . .	0,496 „ „
wirkliche Zufuhr	22,208 ccm Alkohol,

bzw. pro Körperkilogramm 1,74 ccm absoluter Alkohol.

Es wurde wiedergefunden:

im Magen + Inhalt . .	1,78 ccm Alkohol	=	8,02%	der Zufuhr,
„ Darm + Inhalt . .	1,02 „ „	=	4,60%	„ „
Sa. . .	2,80 ccm Alkohol	=	12,62%	der Zufuhr,
also resorbiert	19,408 „ „	=	87,38%	„ „
im Blut	1,24 „ „	=	5,60%	„ „

Versuch 3 am 29. VI. 1914.

Versuchstier: Ein an Alkohol gewöhnter Hund von 10,75 kg Gewicht.

Alkoholeinnahme 20,30 ccm absoluter Alkohol, resp. 1,81 ccm pro Körperkilogramm.

Die Alkoholbestimmungen ergaben:

im Magen + Inhalt . .	1,28 ccm Alkohol	=	6,30%	der Zufuhr,
„ Darm + Inhalt . .	1,17 „ „	=	5,76%	„ „
Sa. . .	2,45 ccm Alkohol	=	12,06%	der Zufuhr,
also resorbiert	17,85 „ „	=	87,94%	„ „

Versuch 4 am 6. VII. 1914.

Das Versuchstier, ein an Alkohol gewöhnter Hund von 8,6 kg Gewicht, erhielt 17,582 ccm Alkohol, entsprechend 2,04 ccm pro Körperkilogramm.

Es wurden an Alkohol wiedergefunden:

im Magen + Darm: Sa.	1,11 ccm Alkohol	=	6,31%	der Zufuhr,
also resorbiert	16,47 „ „	=	93,69%	„ „

Versuch 5 am 2. V. 1911

an einem an Alkohol gewöhnten Hund, der unmittelbar nach der Alkoholzufuhr 1 Stunde Laufarbeit[1]) auf einer Tretbahn geleistet hatte.

Gewicht des Hundes 7,6 kg.

Alkoholeinnahme 17,16 ccm Alkohol, entsprechend 2,26 ccm Alkohol pro Körperkilogramm.

Es wurden wiedergefunden:

im Magen + Inhalt . .	1,32 ccm Alkohol	=	7,7%	der Zufuhr,
„ Darm + Inhalt . . .	0,77 „ „	=	4,5%	„ „
Sa. . .	2,09 ccm Alkohol	=	12,2%	der Zufuhr,
also resorbiert	15,07 „ „	=	87,8%	„ „

[1]) Abwechselnd 10 Minuten Laufarbeit und 5 Minuten Pause.

Versuch 6 am 8. VI. 1911 an einem Hunde nach 1 stündiger Laufarbeit.

Gewicht des Hundes 9,5 kg.

Alkoholzufuhr 20,03 ccm bzw. 2,11 ccm Alkohol pro Körperkilogramm.

Es wurden wiedergefunden:

im Magen + Inhalt . .	1,67 ccm Alkohol	= 8,4 %	der Zufuhr,
„ Darm + Inhalt . . .	1,35 „ „	= 6,7 %	„ „
Sa. . .	3,02 ccm Alkohol	= 15,1 %	der Zufuhr,
also resorbiert	17,01 „ „	= 84,9 %	„ „

Tabelle II.

Mittelwerte aus vier 1stündigen Ruhe- und zwei 1stündigen Arbeitsversuchen bei an Alkohol gewöhnten Tieren.

	Die Alkoholausscheidung betrug in Prozenten der Zufuhr bei den						Mittel
	1 stündigen Ruheversuchen				1 stündigen Arbeitsversuchen		
Versuch Nr. . .	1	2	3	4	5	6	
Magen	8,64	8,02	6,30	—	7,7	8,4	7,8
Darm	7,88	4,60	5,76	—	4,5	6,7	5,9
Sa. . .	16,52	12,62	12,06	6,31	12,2	15,1	12,4
Resorbiert	83,48	87,38	87,94	93,60	87,8	84,9	87,5

Die Werte für den Alkoholgehalt stimmen bei den einzelnen Versuchen befriedigend überein, und auch zwischen Ruhe- und Arbeitsversuchen sind keine wesentlichen Abweichungen zu konstatieren. Eine Ausnahme macht nur der Versuch 4 mit dem abnorm niedrigen Wert von 6,3 % der Zufuhr im gesamten Verdauungstraktus.

Tabelle III.

	Mittel aus zwei 1stündigen Ruheversuchen an ungewöhnten Hunden %	Mittel aus sechs 1stündigen Versuchen (vier Ruhe- und zwei Arbeitsversuche) an gewöhnten Hunden %
Magen	25,7	7,8
Darm	8,1	5,9
Sa. . .	33,8	12,4
Resorbiert nach 1 Stunde	66,2	87,5

Die Versuchsergebnisse bezüglich der Alkoholresorption durch an Alkohol gewöhnte und nicht daran gewöhnte Hunde sind in der vorstehenden Tabelle III zusammengestellt.

Die Unterschiede sind ganz eindeutig. Die Alkoholresorption vollzieht sich nach unseren Versuchen bei den ungewöhnten Tieren viel langsamer als bei den an Alkoholgenuß gewöhnten. Der Magen der Tiere, die Alkohol zum erstenmal erhalten hatten, enthält nach 1 Stunde rund 26%, der Darm rund 8% des eingebrachten Alkohols, so daß 66% der Zufuhr nach dieser Zeit resorbiert waren. Weit größere und annähernd übereinstimmende Quantitäten Alkohol wurden in derselben Zeit von den an Alkohol gewöhnten ruhenden und arbeitenden Tieren resorbiert, nämlich 87,5%, das sind rund 20% der Zufuhr mehr als bei den ungewöhnten Tieren. J. Pringsheim[1]) hat im Gegensatz hierzu konstatiert, daß die an Alkohol gewöhnten Tiere (Ratten) innerhalb der ersten beiden Stunden ca. 20% mehr resorbierten als die daran gewöhnten Tiere. Da Pringsheim die innerhalb der ersten Stunde resorbierten Alkoholmengen nicht bestimmt hat, können wir seine Resultate nicht streng mit den unsrigen vergleichen; jedenfalls haben wir stets eindeutige und weit größere Unterschiede beim gewöhnten im Vergleich zum ungewöhnten Tier beobachtet als Pringsheim.

Aus der Arbeit von Schweisheimer[2]), der den Alkoholgehalt des Blutes von Abstinenten, mäßigen Gewohnheitstrinkern, und Potatoren in verschiedenen Zeitabschnitten nach der Aufnahme bestimmte, geht hervor, daß die Geschwindigkeit der Alkoholresorption durch den gewöhnten Organismus größer ist als beim nichtgewöhnten. Der Autor fand nämlich, daß der Alkoholgehalt des Blutes beim gewöhnten Organismus kurze Zeit nach dem Alkoholgenuß die höchsten Werte erreicht und nach kurzem Verweilen auf dieser Höhe relativ schnell abfällt, während im Gegensatz dazu beim nichtgewöhnten Organismus der höchste Alkoholgehalt erst nach $1^1/_2$ bis 2 Stunden erreicht ist und sich noch einige Zeit auf dieser Höhe hält. Hieraus wäre also in Übereinstimmung mit unseren

[1]) l. c.

[2]) W. Schweisheimer, Der Alkoholgehalt des Blutes unter verschiedenen Bedingungen. Deutsches Arch. f. klin. Med. **109**, 271, 1913.

Versuchen an Hunden zu folgern, daß auch bei dem an Alkohol nicht gewöhnten Menschen die Alkoholresorption langsamer erfolgt als bei dem daran gewöhnten.

Außer den acht 1stündigen Versuchen über die Geschwindigkeit der Alkoholresorption an ungewöhnten und an Alkoholgenuß gewöhnten Tieren sind drei Versuche von 2stündiger Dauer an gewöhnten Hunden durchgeführt worden, deren Ergebnisse wir hier folgen lassen.

E. Drei 2stündige Versuche an gewöhnten Tieren.

Versuch 1 am 15. X. 1913.

Versuchstier: Hund von 13,1 kg Gewicht.

Alkoholzufuhr 27,85 ccm absol. Alkohol, bzw. 2,12 ccm pro Körperkilogramm.

Es wurde an Alkohol wiedergefunden:

im Magen + Inhalt . .	0,50 ccm Alkohol	= 1,80 %	der Zufuhr
„ Darm + Inhalt . .	0,83 „ „	= 2,98 %	„ „
Sa. . .	1,33 ccm Alkohol	= 4,78 %	der Zufuhr,
also resorbiert	26,52 „ „	= 95,22 %	„ „

Versuch 2 am 13. V. 1914.

Das Versuchstier, ein seit dem 15. April an Alkohol gewöhnter Hund von 11,7 kg Gewicht erhielt mittels Schlundsonde 50 ccm einer 50,92 %igen alkoholischen Lösung, entsprechend 25,46 ccm absol. Alkohol.

Rückstand . .	1,00 „ .
Wirkliche Zufuhr . .	24,46 ccm
resp. pro 1 kg Lebendgew. . .	2,1 „ Alkohol.

Nach 2 Stunden wurde an Alkohol wiedergefunden:

im Magen + Darm . .	1,05 ccm Alkohol	= 4,29 %	der Zufuhr,
also resorbiert	23,41 „ „	= 95,71 %	„ „

Versuch 3 am 25. IX. 1913 am arbeitenden Tiere.

Der Hund wog 12 kg und erhielt 25,35 ccm absoluten Alkohol, entsprechend 2,11 ccm pro Körperkilogramm.

Es wurden wiedergefunden:

im Magen + Inhalt . .	0,23 ccm Alkohol	= 0,91 %	der Zufuhr,
„ Darm + Inhalt . .	0,66 „ „	= 2,61 %	„ „
Sa. . .	0,89 ccm Alkohol	= 3,52 %	der Zufuhr,
also resorbiert	24,46 „ „	= 96,48 %	„ „

Die folgende Tabelle enthält die Zusammenstellung der Versuchsergebnisse an den drei Tieren.

Tabelle IV.
Mittelwerte aus drei 2stündigen Versuchen an gewöhnten Hunden.

Versuch	1 %	2 %	3 %	Mittel %
Magen	1,80	—	0,91	**1,4**
Darm	2,98	—	2,61	**2,8**
Sa. . . .	4,78	4,29	3,52	**4,2**
Resorbiert . . .	95,22	95,71	96,48	**95,8**

Hiernach ist also bei gewöhnten Tieren die Alkoholresorption nach ungefähr 2 Stunden beendet.

II.
Untersuchungen über die Geschwindigkeit der Alkoholoxydation und über die Beteiligung des Alkohols am Gesamtstoffwechsel im tierischen Organismus.

Wir haben folgende Versuche ausgeführt:

1. Je einen 10 stündigen Versuch an einem an Alkoholgenuß gewöhnten und einem nicht daran gewöhnten Hunde.

2. Zwei 15 stündige Versuche an gewöhnten Hunden und einen 15 stündigen Versuch an einem ungewöhnten Hunde.

Über die Versuchsanstellung, die Alkoholdestillation und Bestimmung ist in der Einleitung ausführlich Mitteilung gemacht worden.

Um zu berechnen, in welchem Umfange sich der Alkohol am Gesamtstoffwechsel beteiligte, haben wir die von N. Zuntz[1]) für den Ruhestoffwechsel direkt ermittelten Zahlen in Ansatz gebracht. Zuntz fand für Hunde annähernd desselben Gewichts, wie wir sie für unsere Versuche benutzten, folgende Werte.

Gewicht des Hundes kg	Ruhestoffwechsel pro kg und 1 Std. Cal.
5,05	2,25
7,46	1,98
10,57	1,81

[1]) N. Zuntz, Einfluß der Geschwindigkeit, der Körpertemperatur und der Übung auf den Stoffverbrauch bei Ruhe und Muskelarbeit. Arch. f. d. ges. Physiol. 95, 192, 1903.

Auf Grund der vorstehenden Zahlen haben wir für unsere Hunde folgende Werte für den Ruhestoffwechsel pro 1 kg und 1 Stunde eingesetzt: Für die ca. 6 kg schweren 2,11 Cal. (Mittel aus 2,25 und 1,98), für die 8 bis 9 kg schweren 1,90 Cal. (Mittel aus 1,98 und 1,81) und für die 10 bis 13 kg schweren Tiere 1,81 Cal.

F. Zwei 10stündige Alkoholversuche an einem ungewöhnten und an einem gewöhnten Hunde.

Versuch 1 am 3. IV. 1911 an einem an Alkohol nicht gewöhnten Hund.

Ein etwa 6 Monate alter Hund, der nie zuvor Alkohol erhalten hatte und am Tage des Versuchs 7,5 kg wog, erhielt um 11[10] Uhr abends 40 ccm einer 37,84 %igen Alkohollösung, entsprechend 15,14 ccm absol. Alkohol, bzw. 2,02 ccm pro Körperkilogramm.

Sofort nach der Alkoholzufuhr kam das Tier, mit Harntrichter versehen, in den Respirationsapparat zwecks Bestimmung des exhalierten, sowie des im Urin ausgeschiedenen Alkohols. Am folgenden Tage, um 9[10] Uhr morgens, also nach 10 Stunden, wurde der Hund herausgenommen, durch Cyankaliinjektion getötet und nach Entnahme der Blase in den Destillierkolben gebracht.

An Alkohol wurde wiedergefunden:

in der Atmung	0,57 ccm	Alkohol	= 3,76 %	der	Zufuhr,
in Harn und Blase . .	0,57 „	„	= 3,76 %	„	„
im Kadaver (korrigiert)	3,10 [1]) „	„	= 20,48 %	„	„
Sa. . .	4,24 ccm	Alkohol	= 28,00 %	der	Zufuhr,
somit in 10 Stunden verbrannt . . . Sa. . .	10,90 „	„	= 72,00 %	„	„
bzw pro 1 Std. u. 1 kg .	0,145 „	„	= 0,815 Cal.		

Da der Energieumsatz des 7,5 kg schweren Hundes pro 1 kg und 1 Std. bei Ruhe 1,98 Cal. beträgt, so hat sich der Alkohol im Mittel der 10 Stunden zu 41,2 % am Stoffwechsel beteiligt.

Versuch 2 am 30. V. 1911 an einem an Alkohol gewöhnten Hund.

Der 8,22 kg schwere Hund, der etwa 8 Monate alt und seit 3 Monaten an einen täglichen Alkoholgenuß von 2 ccm pro Körperkilogrammm gewöhnt war, erhielt um 11[30] Uhr abends 30 ccm einer 57,25 %igen alkoholischen Lösung . . . . . . = 17,18 ccm absol. Alkohol,
Rückstand in der Schlundsonde 0,22 „
also wirkliche Zufuhr . . 16,96 ccm.

[1]) Direkt gefunden 3,71 ccm, ab für reduzierende Stoffe 0,92 ccm, erhöht um 11 %. (23,2 kg Destillat.)

Am anderen Morgen um 9[30] Uhr, also nach 10 Stunden, wurde das Tier, das sich ebenso wie beim vorhergehenden Versuch in dieser Zeit im Respirationsapparat befunden hatte, getötet und nach Entnahme der Blase destilliert.

Es wurde wiedergefunden:

in der Atmung	0,58 ccm Alkohol	= 3,42 %	der Zufuhr,
in Harn und Blase . . .	0,24 „ „	= 1,42 %	„ „
im Kadaver[1]) (korrigiert)	3,74 „ [2]) „	= 22,06 %	„ „
Sa. . . .	4,56 ccm Alkohol	= 26,90 %	der Zufuhr.
Innerhalb der 10 Stunden oxydierte der Hund also	12,40 „ „	= 73,10 %	der Zufuhr,
bzw. pro 1 kg und 1 Std.	0,151 „ „	= 0,849 Cal.	

Im Mittel der 10 Stunden hat sich also der Alkohol am Gesamtstoffwechsel (in diesem Falle 1,91 Cal. pro Kilogramm und Stunde) zu 44,5 % beteiligt.

Tabelle V.

Zwei 10 stündige Versuche an einem an Alkohol ungewöhnten und einem daran gewöhnten Hund.

	Ungewöhnt Alkohol		Gewöhnt Alkohol	
	ccm	%	ccm	%
Gewicht der Tiere . .		7,5 kg		8,22 kg
Alkoholzufuhr	15,14		16,96	
Alkoholzufuhr pro Körperkilogramm . . .	2,02		2,06	
Atmung	0,57	3,76	0,58	3,42
Harn	0,57	3,76	0,24	1,42
Kadaver	3,10	20,48	3,74	22,06
Sa.	4,24	28,00	4,56	26,90
Oxydiert	10,90	72,00	12,40	73,10
Oxydiert pro 1 kg und 1 Std.	0,145	= 0,815 Cal.	0,151	= 0,849 Cal.
Beteiligung am Gesamtumsatz zu	41,2 %		44,5 %	

Im Urin wurde von dem gewöhnten Hund in Übereinstimmung mit früheren Befunden erheblich weniger Alkohol sezerniert, als von dem nicht an Alkohol gewöhnten (1,42 % gegenüber 3,76 % der Zufuhr).

Bei beiden Tieren ist bezüglich der Beteiligung des Alkohols am Stoffwechsel annähernde Übereinstimmung zu konstatieren,

[1]) 36,9 kg Destillat.

[2]) Direkt gefunden 4,37 ccm, ab für reduzierende Stoffe 1,00 ccm, erhöht um 11 %.

so daß also der an Alkohol gewöhnte Organismus nicht erheblich mehr Alkohol zu verbrennen vermag als der ungewöhnte. Der Alkohol beteiligte sich nämlich am gesamten Stoffumsatz bei dem gewöhnten Hund zu 44,5 $^0/_0$, bei dem ungewöhnten zu 41,2 $^0/_0$.

G. Ein 15 stündiger Versuch an einem ungewöhnten Hund und zwei 15 stündige Versuche an gewöhnten Hunden.

Versuch 1 am 8. I. 1912 an einem an Alkohol gewöhnten Hunde.

Ein 10,57 kg schwerer ausgewachsener Hund, der bis dahin noch keinen Alkohol erhalten hatte, wurde nach Eingabe von 40 ccm einer 57,25 $^0/_0$igen Alkohollösung = 22,90 ccm absoluter Alkohol,
— 0,45 „ Rückstand in der Schlundsonde.
22,45 ccm absoluten Alkohols,
entsprechend 2,12 „ pro Körperkilogramm,

um 6^{20} Uhr nachmittags mit Harntrichter versehen in den Respirationsapparat gebracht; nach 15 Stunden, am folgenden Morgen um 9^{20} Uhr, wurde das Tier getötet und wie früher destilliert. Es wurde an Alkohol wiedergefunden:

in der Atmung	0,95 ccm Alkohol	= 4,23 $^0/_0$ der Zufuhr,	
in Blase und Harn . . .	0,27 „ „	= 1,19 $^0/_0$ „ „	[1])
im Kadaver[2]) (korrigiert[3])	1,72) „ „	= 7,66 $^0/_0$ „ „	
Sa. . . .	2,94 ccm Alkohol	= 13,08 $^0/_0$ der Zufuhr.	

[1]) Wenn bei diesem 15stündigen Versuch von dem ungewöhnten Hund nur 1,19 $^0/_0$ des Alkohols im Harn ausgeschieden wurde, während bei einem anderen Versuche ein gewöhnter Hund innerhalb 10 Stunden 1,42 $^0/_0$, also mehr sezernierte, obwohl man das Umgekehrte hätte erwarten sollen, so ist auf diese Differenz doch kein Wert zu legen, denn einmal sind die sezernierten Alkoholmengen überhaupt nur sehr gering, und dann differiert die diuretische Wirkung alkoholischer Lösungen, von der die Alkoholsekretion der Nieren im wesentlichen abhängt, auch bei demselben Individuum sehr beträchtlich. Was die Versuchsdauer von 10 bzw. 15 Stunden betrifft, so war bezüglich der durch die Nieren sezernierten Alkoholmengen überhaupt kein Unterschied zu erwarten, weil die Hauptmenge des im Harn zur Ausscheidung gelangenden Alkohols bereits innerhalb der ersten Stunden nach der Zufuhr sezerniert wird, wie wir mehrfach nachgewiesen haben. [Siehe W. Völtz und A. Baudrexel, Über die vom tierischen Organismus unter verschiedenen Bedingungen ausgeschiedenen Alkoholmengen (Arch. f. d. ges. Physiol. **138**, S. 85 bis 133, 1911). — W. Völtz, A. Baudrexel und W. Dietrich, Über die vom tierischen Organismus unter verschiedenen Bedingungen ausgeschiedenen Alkoholmengen, III. Mitteilung. Einfluß des Füllungszustandes des Magen-Darmkanals auf die Alkoholausscheidung in Harn und Atmung. (Versuche an Menschen und an Hunden.) Arch. f. d. ges. Physiol. **145**, S. 210 bis 228, 1912.]

[2]) 32,35 kg Destillat.

[3]) Direkt gefunden 2,84 ccm Alkohol, ab für reduzierende Stoffe 1,29 ccm, erhöht um 11 $^0/_0$ = 1,72 ccm.

Somit wurden in 15 Std.
oxydiert . . . . . Sa. 19,51 ccm Alkohol = 86,9 %,
also pro 1 Std. und 1 kg
Tier . . . . 0,123 „ „ = 0,691 Cal.

Der Alkohol beteiligte sich also im Mittel der 15 Stunden am Gesamtumsatz (für den 10,57 kg schweren Hund 1,81 Cal. pro Kilogramm und Stunde) zu 38,2 %.

Versuch 2 am 21. VI. 1911 an einem gewöhnten Hund.

Ein 10,1 kg schwerer, 8 Monate alter Hund, seit 4 Monaten an Alkoholgenuß gewöhnt, erhielt um 6[25] Uhr 36,0 ccm eines 57,25 %igen Alkohols, entsprechend

	20,61 ccm absol. Alkohol,
in der Schlundsonde verblieben .	0,03 „ „ „
wirkliche Zufuhr	20,58 ccm absol. Alkohol,

resp. pro Körperkilogramm 2,04 ccm absoluter Alkohol. Die Tötung erfolgte nach 15 Stunden, am folgenden Morgen um 9[35] Uhr.

Es wurde wiedergefunden:

in der Atmung . . .	0,53 ccm Alkohol	= 2,58 %	der Zufuhr,
in Harn und Blase .	0,12 „ „	= 0,58 %	„ „
im Kadaver[1]) (korr.) .	1,13[2]) „ „	= 5,49 %	„ „
Sa. . .	1,78 ccm Alkohol	= 8,65 %	der Zufuhr.

Somit verbrannten in 15 Stunden:
18,81 ccm Alkohol = 91,4 % der Zufuhr,
resp. pro 1 Stunde und 1 kg Tier:
0,123 ccm Alkohol = 0,691 Cal.

Im Mittel der 15 Stunden betrug die Beteiligung des Alkohols am gesamten Stoffumsatz (für den 10,1 kg schweren Hund 1,81 Cal. pro 1 kg und Stunde) 38,2 %.

Versuch 3 am 12. VII. 1911 an einem gewöhnten Hund.

Eine an Alkohol gewöhnte Hündin von 9,7 kg Gewicht erhielt um 6[42] Uhr abends 35 ccm einer 57,25 %igen alkoholischen Lösung gleich

	20,04 ccm absol. Alkohol,
in der Schlundsonde verblieben . .	0,02 „ „ „
wirkliche Zufuhr somit	20,02 ccm absol. Alkohol,

bzw. pro Körperkilogramm 2,05 ccm. Die Tötung erfolgte nach 15 stündigem Aufenthalt im Respirationsapparat um 9[42] Uhr morgens.

---

[1]) 36,0 kg Destillat.

[2]) Direkt gefunden 2,25 ccm, ab für reduzierende Stoffe 1,23 ccm, erhöht um 11 %.

Im Alkohol wurde wiedergefunden:

in der Atmung . . .	0,83 ccm Alkohol	= 4,14 %	der Zufuhr,
in Harn und Blase .	0,07 „ „	= 0,35 %	„ „
im Kadaver[1]) (korr.) .	1,18[2]) „ „	= 5,90 %	„ „
Sa. . .	2,08 ccm Alkohol	= 10,39 %	der Zufuhr.

Somit in 15 Stunden verbrannt:

17,92 ccm Alkohol = 89,6 % der Zufuhr,

resp. pro 1 kg und 1 Stunde:

0,123 ccm Alkohol = 0,692 Cal.

Die Beteiligung des Alkohols am Gesamtumsatz (1,81 Cal. pro 1 kg und 1 Stunde) betrug also im Mittel der 15 Stunden 38,3 %.

Tabelle VI.

Drei 15 stündige Versuche an einem ungewöhnten und an zwei an Alkoholgenuß gewöhnten Hunden.

	Ungewöhnt 1		Gewöhnt 2		Gewöhnt 3		Mittel aus 2 und 3	
	ccm	%	ccm	%	ccm	%	ccm	%
Gewicht	10,57 kg		10,1 kg		9,7 kg		9,9 kg	
Alkoholzufuhr	22,45		20,59		20,02		20,30	
Alkoholzufuhr pro 1 kg	2,12		2,04		2,05		2,045	
Atmung	0,95	4,23	0,53	2,58	0,83	4,14	0,68	3,36
Harn	0,27	1,19	0,12	0,58	0,07	0,35	0,10	0,46
Kadaver	1,72	8,7	1,13	5,49	1,18	5,90	1,15	5,70
Sa.	2,94	13,1	1,78	8,64	2,08	10,39	1,93	9,51
Oxydiert	19,51	86,9	18,81	91,4	17,92	89,6	18,36	90,5
Oxydiert pro 1 kg und Stunde	0,123 = 0,691 Cal.		0,123 = 0,691 Cal.		0,123 = 0,691 Cal.		0,123 = 0,691 Cal.	
Beteiligung am Gesamtumsatz		38,2		38,2		38,3		38,25

Die 15 stündigen Versuche haben im wesentlichen zu gleichen Resultaten geführt, wie die 10 stündigen. Das an Alkohol nicht gewöhnte Tier schied auch hier mehr Alkohol in Harn und Atmung aus und die Werte für die Beteiligung des Alkohols am Gesamtstoffwechsel stimmen bei dem ungewöhnten Tier sogar absolut überein mit dem für die beiden gewöhnten Tiere gefundenen Mittelwert. Der Alkohol hatte sich bei den 15 stündigen Versuchen durchschnittlich immer noch zu 38 % am Ge-

[1]) 32,9 kg Destillat.

[2]) Direkt gefunden 2,25 ccm, ab für reduzierende Stoffe 1,18 ccm, erhöht um 11 %.

samtumsatz beteiligt, gegenüber rund 43% bei den 10stündigen Versuchen. Während der ersten 10 Stunden verbrannten die Tiere durchschnittlich 0,148 ccm Alkohol pro 1 kg und Stunde, während der 15stündigen Versuche 0,123 ccm Alkohol. Aus diesen Zahlen berechnet sich die im Durchschnitt pro Stunde von der 10. bis 15. Stunde pro 1 kg oxydierte Alkoholmenge zu 0,072 ccm. Dieser Wert beträgt also kaum die Hälfte der für die ersten 10 Stunden im Durchschnitt pro Stunde ermittelten Zahl. Das Alkoholoxydationsvermögen des Tierkörpers ist also innerhalb bestimmter Grenzen um so größer, je größere Alkoholmengen in den Organen enthalten sind.

Es ist nun die Frage von Interesse, wann die bei den vorliegenden Versuchen verabreichten Alkoholquantitäten vollständig verbrannt worden wären. Nach 15 Stunden waren bei den ungewöhnten 0,163 ccm, bei den gewöhnten Tieren im Mittel insgesamt noch 0,116 ccm Alkohol pro 1 kg vorhanden. Zur Oxydation dieser Quantitäten würden bei dem ungewöhnten Hund noch ca. 2 Stunden 10 Minuten erforderlich sein, bei dem an Alkohol gewöhnten noch rund 1 Stunde 40 Minuten, wenn die tierischen Zellen die gleiche Alkoholmenge oxydieren würden, die von der 10. bis 15. Stunde verbrannt worden ist, nämlich 0,072 ccm pro 1 kg und Stunde. Dieser Wert würde zweifellos zu hoch sein, weil, wie wir gesehen haben, um so weniger Alkohol verbrannt wird, je geringer die Konzentration der in den Organen kreisenden Alkohollösung wird. Jedenfalls läßt sich aus unseren Versuchen schließen, daß der Alkohol nach Zufuhr von 2 ccm pro Körperkilogramm in einer Dosis ungefähr in 18 Stunden vollständig verbrannt sein dürfte.

Versuchsergebnisse.

1. Der Organismus des Hundes enthält bei alkoholfreier Ernährung pro Körperkilogramm eine ca. 0,12 ccm Alkohol entsprechende Menge flüchtiger Bichromat-Schwefelsäure reduzierender Stoffe. Muskelarbeit hat auf den Gehalt des Körpers an reduzierenden Stoffen keinen Einfluß.

2. Die Geschwindigkeit der Alkoholresorption[1]) ist wesent-

[1]) Wir betrachten diejenigen Alkoholmengen als resorbiert, die wir im Magen und Darm, sowie in ihren Wandungen nicht mehr nachweisen konnten.

lich größer bei den an Alkohol gewöhnten Tieren als bei den ungewöhnten. Wir fanden nach der Zufuhr von ca. 2 ccm Alkohol pro Körperkilogramm in einer Dosis und nach ca. 24 stündigem Hunger folgende Alkoholmengen in Prozent der Zufuhr als resorbiert:

Nach 1 Stunde		Nach 2 Stunden
ungewöhnt	gewöhnt	gewöhnt
66,2 %	87,5 %	95,8 %

Nach diesen Daten dürfte der Alkohol unter den gewählten Versuchsbedingungen auch beim ungewöhnten Organismus nach ca. $2^1/_2$ Stunden vollständig in die Blutbahn gelangt sein.

3. Die Oxydation des Alkohols im tierischen Organismus erfolgt verhältnismäßig langsam. Nach Zufuhr von 2 ccm pro Körperkilogramm wurden folgende Quantitäten an Alkohol in Prozent der Zufuhr verbrannt:

Innerhalb 10 Stunden		Innerhalb 15 Stunden	
ungewöhnt	gewöhnt	ungewöhnt	gewöhnt
72 %	73,10 %	86,9 %	90,5 %

Die vollständige Oxydation des Alkohols dürfte unter Bedingungen, wie wir sie gewählt haben, etwa 18 Stunden in Anspruch nehmen. Was die Geschwindigkeit der Alkoholverbrennung durch den gewöhnten Organismus im Vergleich zu dem nicht an Alkohol gewöhnten betrifft, so vermochten die gewöhnten Tiere bei unseren Versuchen zwar den Alkohol ein wenig schneller zu oxydieren als die nicht gewöhnten, jedoch sind die Unterschiede so gering, daß wir keinen Wert auf dieselben legen möchten.

4. Der Alkohol beteiligte sich bei den 10 stündigen Versuchen durchschnittlich zu rund 43 %, bei den 15 stündigen Versuchen zu rund 38 % des gesamten Energieumsatzes am Ruhestoffwechsel.

Wir verfügen noch über weitere Versuche, aus denen hervorgeht, daß der Alkohol bei höherem Gehalt des Körpers, wie er in den ersten Stunden der Versuche besteht, noch zu einem wesentlich höheren Prozentsatz zur Deckung des Gesamtumsatzes herangezogen wird.

Die Reaktionen des ruhenden und arbeitenden Froschmuskels.

Von

Heinrich Pechstein.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Arbeitsphysiologie, Berlin.)

(Eingegangen am 19. September 1914.)

Die folgende Arbeit soll sich nicht mit der quantitativen Messung irgendwelcher bei Muskelarbeit entstehender Säuren oder saurer Produkte befassen, sondern mit den bei Muskelruhe und Muskeltätigkeit tatsächlich bestehenden Wasserstoffionenkonzentrationen. Daß nämlich Bildung von sauren Produkten und Änderung der [H˙] im lebenden und unter normaler Blutzirkulation stehenden Organismus keineswegs identisch sind, haben uns die Reaktionsmessungen des Blutes selbst gelehrt, das trotz bestehender, nachweisbarer Acidosis seine normale Reaktion festzuhalten vermag infolge von CO_2-Abgabe durch die Lungen und Ausscheidung saurer Salze durch den Urin. Kommt es doch bei der [H˙] des Blutes nicht auf die Menge der Kohlensäure oder des Bicarbonates allein an, sondern lediglich auf das Verhältnis, in dem beide zueinander stehen, und ist im Falle einer Acidosis das Natrium des letzteren durch stärkere Säuren gebunden, so scheidet der Organismus die überschüssige Kohlensäure durch die Lungen so weit aus, bis das die Reaktion des Blutes fast ausschließlich bestimmende Verhältnis der CO_2 : Bicarbonat wieder das ursprüngliche ist[1]).

Bezüglich der Muskulatur, von der es ja bekannt ist, daß sie erhebliche Mengen von Milchsäure zu bilden vermag, konnten

[1]) Zusammenhängend sind diese Verhältnisse von L. Michaelis dargestellt. „Die Wasserstoffkonzentration.“ Monographien aus dem Gesamtgebiete der Physiologie der Pflanzen und der Tiere. 1914. Verlag von J. Springer.

nun die Verhältnisse so liegen — vorausgesetzt, daß sich der Muskel unter normaler Blutzirkulation befand —, daß die entstehende Milchsäure sofort vom Alkali des Blutes gebunden und fortgeführt, oder aber zum Teil durch den Sauerstoff zu der schwächeren CO_2 weiter oxydiert, oder aber auch in eine nicht saure Vorstufe zurückverwandelt wurde. Zu nachweisbaren größeren Reaktionsänderungen brauchte es also nicht zu kommen. Daß selbst der nicht mehr unter Zirkulation stehende Muskel in einer Sauerstoffatmosphäre einen großen Teil seiner durch Ermüdung gebildeten Milchsäure wieder verliert, hatten die Untersuchungen von Fletcher und Hopkins[1]) gezeigt. Ja, es reichte der Sauerstoff der Luft bereits aus, um die Milchsäuremenge auf gleichem Niveau zu halten, während sie in Stickstoffatmosphäre durch das gleichzeitige Absterben des Muskels zunahm.

Ändert sich aber die Reaktion des Muskels bei der Arbeit in merklicher Weise, so ist es möglich, daß die Reaktionsänderung selbst einen wesentlichen Faktor der Muskelermüdung darstellt, in dem die Muskelfermente bei dieser ungünstigen Reaktion nicht mehr genügend wirksam sind. Die große Abhängigkeit der Fermentwirkung von oft ganz geringen Reaktionsänderungen haben die physikalisch-chemischen Untersuchungen der letzten Jahre bei einer großen Reihe von Fermenten festgestellt, ebenso, daß es sich in den meisten Fällen hierbei nur um reversible Schädigungen handelt[2]). Daß es sich aber andererseits um fermentative Prozesse im weitesten Sinne auch bei

[1]) Fletcher und Hopkins, Journ. of Physiol. 35, 247, 1906.

[2]) S. P. L. Sörensen, Enzymstudien II. Diese Zeitschr. 21, 131, 1909. — Michaelis und Davidson, Wirkung der $H^{\cdot}$-Ionen auf das Invertin. Ebenda 35, 456, 1911. — Dieselben, Abhängigkeit der Trypsinwirkung von der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration. Ebenda 36, 131, 1912. — Palitsch und Walbaum, Über die optimale $H^{\cdot}$-Konzentration bei der tryptischen Gelatineverflüssigung. Ebenda 97, 1, 1912. — Rona und Arnheim, Erepsin. Ebenda 57, 84, 1913. — Davidsohn, Magen- und Pankreaslipase. Ebenda 45, 284, 1912 und 48, 249, 1913. — Rona und Bien, Esterase des Blutes. Ebenda 33, 413, 1911. — Michaelis und Mendelssohn, Pepsin und Labferment. Ebenda 58, 315, 1913 und 65, 1, 1914. — Michaelis und Rona, Maltase. Ebenda 57, 70 und 58, 148, 1913. — Michaelis und Pechstein, Katalase und Speicheldiastase. Ebenda 53, 320, 1913 und 59, 77, 1914. — Rona und Wilenko, Glykolyt. Ferment des Blutes. Ebenda 62, 1, 1914.

der Muskelarbeit handelt, ist wohl außer Zweifel, wenn auch die Untersuchungsergebnisse über die Muskelfermente bisher noch sehr widersprechend und daher wenig befriedigend sind.

Was nun diese Frage der Beeinflussung der Muskelfermente durch die Reaktion anbetrifft, so waren für mich von größtem Interesse die Befunde, die Rona und Wilenko[1]) über den Zuckerverbrauch des überlebenden Kaninchenherzens erhoben. Sie wiesen nach, daß eine nur wenig nach der sauren Seite hin von der normalen Blutreaktion abweichende $[H^{\cdot}]$ der angewandten traubenzuckerhaltigen Nährlösung genügte, um das glykolytische Ferment so zu beeinflussen, daß der dem Herzen von außen dargebotene Zucker nicht oder so gut wie nicht angegriffen wurde. Der Verbrauch des Zuckers pro Gramm Herz in der Stunde betrug bei annähernder Blutreaktion, deren $[H^{\cdot}]$ bei 18 bis $20^0 = 2{,}75 \cdot 10^{-8}$, oder $p_H = 7{,}56$ ist, im Durchschnitt 2,5 bis 2,8 mg, bei einer $[H^{\cdot}]$ jedoch, die während des Versuches zwischen den Werten $p_H = 6{,}41$ und 7,27 schwankte, erhielten sie nur einen Verbrauch von 0,2, 0,6 und 0,8 mg.

Am Schluß ihrer Arbeit weisen die Verfasser darauf hin, daß sie in ihren Experimenten vielleicht einem wichtigen Faktor für den Zuckerverbrauch bei gewissen Diabetesarten näher gekommen seien, indem bei diesen vielleicht die Gewebe oder Muskulatur etwas saurer als normal sind. Da nun den Verfassern anläßlich eines Vortrages über dasselbe Thema vorgehalten wurde, daß letztere Schlußfolgerung wohl unmöglich sei, da es im Organismus doch wohl nie zu einer sauren Reaktion kommen würde, — ich vermute, weil die Anschauungen über das, was die kleine Verschiebung der $[H^{\cdot}]$ von $p_H = 7{,}56$ bis $p_H = 7{,}27$ oder 6,41 eigentlich bedeutet, recht unklare waren — so war vor allem die erwähnte Arbeit und ihre Diskussion für mich die Veranlassung, einmal festzustellen, welche Reaktionen beim ruhenden und tätigen Muskel, bei dem ich von allen Organen das größte Säuerungsvermögen voraussetzte, überhaupt vorkommen, um dann in späteren Untersuchungen den Einfluß der dabei stattfindenden Reaktionsverschiebungen auf die Wirksamkeit der Muskelfermente zu studieren.

[1]) Rona und Wilenko, Beobachtungen über den Zuckerverbrauch des überlebenden Herzens. Diese Zeitschr. **59**, 173, 1914.

Versuchstechnik.

Über die Messung von Gewebssäften liegt meines Wissens bisher nur eine Arbeit von Michaelis und Kramsztyk[1]) vor, die die [H˙] von einigen Warmblüterorganextrakten — zumeist Leber, aber auch Herz, Niere, Pankreas vom Meerschweinchen, Ratte, Kaninchen, Hund und Katze — bestimmten, und zwar einerseits für die sofort gekochten, und andrerseits für die postmortal weiter gesäuerten Organe. Die Reaktionen der ersteren lagen mit ganz geringen Schwankungen um einen Wert von $p_H = 7{,}0$ ($[H^{\cdot}] = 1.10^{-7}$), die der letzteren um einen Wert von $p_H = 6{,}5$ ($[H^{\cdot}] = 3.10^{-7}$) herum[2]). Da nun die gekochten Organe durch Abgabe von CO_2, sowie durch die allerdings kaum einen Einfluß ausübende Koagulation des Eiweißes etwas alkalischer geworden waren, so nehmen die Verfasser den Mittelwert von $[H^{\cdot}] = 1{,}5 \cdot 10^{-7}$ als den wahrscheinlichsten Wert der Reaktion der Gewebssäfte an. Die Reaktionen der Organextrakte waren also fast neutral, eher etwas sauer, vor allem aber weniger alkalisch als die Reaktion des Blutes.

In meinen Untersuchungen schloß ich mich der von Michaelis und Kramsztyk angewandten Technik fast genau an. Die Muskeln wurden zerschnitten, im Mörser mit wenig Wasser zum feinsten Brei zerrieben, durch ein Tuch koliert und die Reaktion der Extrakte nach der von Michaelis[3]) für das Blut ausgearbeiteten Methode elektrometrisch bestimmt. Für die Reaktionsbestimmung der Muskulatur galt es jedoch noch einige Fehlerquellen auszuschließen. Bei ihren qualitativen Untersuchungen über die Milchsäurebildung im Muskel hatten Fletcher und Hopkins[4]) gefunden, daß der Muskel auf jede Irritierung, sei sie chemischer, mechanischer oder thermischer Natur, mit einer erheblichen Bildung von Milchsäure reagiert. Wollte ich also die jeweils herrschende Reaktion der Muskeln bestimmen, so galt es, die säurebildenden Fermente

[1]) Michaelis und Kramsztyk, Die Wasserstoffionenkonzentration der Gewebssäfte. Diese Zeitschr. 62, 180, 1914.

[2]) Eine Ausnahme machte nur die Muskulatur, die zweimal untersucht wurde und bis zu einer $[H^{\cdot}] = 1 \cdot 10^{-6}$ ($p_H = 6{,}0$) weiter säuerte. Da die Säurewerte aller anderen Organe so dicht beieinander liegen, so weisen die Verfasser auch hierbei auf eine Selbsthemmung der säurebildenden Fermente durch ihre eigene Säureproduktion hin.

[3]) Michaelis und Dawidoff, diese Zeitschr. 46, 131, 1912.

[4]) Fletcher und Hopkins, l. c.

so rasch abzutöten, daß sie nicht vorher noch durch den mit der Tötung ja notwendig verbundenen Reiz zur Wirkung kamen. Der von den Verfassern angewandten Methode der Tötung, nämlich der Abkühlung des ganzen Tieres auf 0° und Abtötung der Muskeln unter eiskaltem Alkohol, konnte ich mich deshalb nicht anschließen, weil der Alkohol das Potential der Extrakte geändert und die Messung der Reaktion daher unmöglich gemacht hätte. Bei Abtötung der Muskeln durch Siedehitze — ein Verfahren, das ich anwandte — hatten die Verfasser ebenfalls nur ganz geringe Milchsäurebildung gefunden. Hatten sie bei ihrer Methode 0,02 bis 0,04% Zinklactat gefunden — Werte, die sie übrigens auch bei ihrer Methode durch die notwendigen Manipulationen veranlaßt glauben —, so hatten sie beim Abtöten durch Siedehitze Zahlen gefunden, die um 0,08% schwankten.

Die Verfasser haben übrigens bei letzterer Methode die Muskeln abgeschnitten und dann erst, allerdings sofort, gekocht. Ich glaube nun nach dem Ausfall meiner Untersuchungen, daß die dabei vorhandene geringe Milchsäurebildung eher auf den Reiz des Abschneidens als auf den des Kochens zurückzuführen ist. Bei meinen Untersuchungen ging ich nämlich so vor, daß ich nach Tötung des Tieres das Bein am Oberschenkel abtrennte und dann sofort kochte, während zur Reaktionsmessung dann nur die absolut intakt gebliebene Unterschenkelmuskulatur verarbeitet wurde. Nachdem ich mich überzeugt hatte, daß es auf die Reaktion des Muskelextraktes keinen Einfluß hatte, ob ich die Muskulatur vor dem Kochen enthäutet hatte oder nicht, habe ich fast alle Untersuchungen, um ein möglichst schnelles Arbeiten zu ermöglichen und vor allem keine mechanische Verletzung des Muskels herbeizuführen, an mit Haut gekochter und erst nach dem Kochen enthäuteter Muskulatur ausgeführt.

Tabelle I.

Reaktion von mit und ohne Haut gekochter Muskulatur.

	a mit Haut	b ohne Haut
1.	p_H = 7,09 (Arm)	7,12 (Bein)
2.	7,11 (r. Unterschenkel)	7,16 (l. Unterschenkel)
3.	7,50 „	7,49 „
4.	7,37 „	7,40 „
5.	7,45 „	7,41 „

Die H-Ionenkonzentration ist in dieser Tabelle, wie in allen folgenden nur durch ihren Logarithmus p_H angegeben, bei dem der bequemeren Schreibweise wegen das negative Vorzeichen fortgelassen wird. p_H des neutralen Wassers bei 16 bis 18° = 7,1 bis 7,07. Ist der p_H-Wert kleiner, d. h. die [H˙] größer, und ist die Reaktion sauer, ist er größer, d. h. die [H˙] kleiner, so ist sie alkalisch.

Daß nun tatsächlich oft ein Unterschied besteht zwischen intakt und verletzt, aber unmittelbar nach dem Trauma gekochter Muskulatur, geht aus der häufigen Differenz der Reaktionswerte der durchschnittenen und der intakten Unterschenkelmuskulatur hervor.

Tabelle II.

Reaktion an unverletzter und verletzt gekochter Muskulatur.

	a) Unverletzt gekochte Unterschenkelmuskulatur	b) Abgeschnittene, aber sofort gekochte Unterschenkelmuskulatur
1.	7,12 r. 7,09 l.	6,81
2.	7,13	6,98
3.	7,16 7,11	6,57
4.	7,18	7,00
5.	7,26	7,12
6.	7,40	7,41
7.	7,44 Arm 7,55 Untersch.	7,57
8.	7,32 r. Untersch. 7,37 l. „ 7,35 Arm	7,31

Fast stets, bisweilen allerdings nur wenig, war die Reaktion des Oberschenkels saurer. Es gelang mir auch in vielen Fällen, mit der von Fletcher und Hopkins (l. c.) angegebenen qualitativen Methode des Milchsäurenachweises Spuren von Milchsäure im durchschnittenen, aber nicht im unverletzt gekochten Muskel nachzuweisen. Nur wenn dessen Reaktion bereits niedere Werte von 7,0 bis 7,1 zeigte, die, wie noch gezeigt werden wird, bereits auf Milchsäure schließen lassen, fiel die Probe auch bei der unverletzt gekochten Muskulatur positiv aus. Diese niederen p_H-Werte wurden nämlich von Tieren gewonnen, die nicht curaresiert gewesen waren, also vor ihrer Tötung noch Abwehrbewegungen ausgeführt hatten. Da nun die quantitativen Milchsäurewerte beim Abtöten der durchschnittenen Muskulatur durch Siedehitze nach den Angaben von Fl. und H. bereits sehr gering sind, so glaube ich, daß sie bei der

intakten Muskulatur, deren Reaktion ja zumeist alkalischer ist (Tabelle II), gleich Null oder wenigstens so minimal sind, daß sie die Reaktionsmessungen kaum beeinflussen können. Es ist jedenfalls nicht zu befürchten, daß die gemessenen Werte durch sie wesentlich saurer sind als die im Organismus tatsächlich bestehenden.

Ein zweiter Einwand, der gemacht werden könnte, nämlich, daß die Muskulatur beim Kochen durch CO_2-Abgabe wesentlich alkalischer würde, ist bereits durch die Untersuchungen von Michaelis und Kramsztyk (l. c.) widerlegt worden. Würden die Organextrakte durch CO_2-Abgabe wesentlich alkalischer — wie dies z. B. das Blut tut, das lediglich durch Stehen an der Luft und durch die CO_2-Abgabe dabei allmählich die Reaktion einer Bicarbonatlösung (p_H um 9 herum) annimmt —, so hätten die Werte der maximal gesäuerten und der gekochten Organe nicht so dicht beieinander liegen können (p_H zwischen 6,5 und 7,00). Andererseits zeigten gesäuerte Organe, wenn sie vor der Verarbeitung gekocht wurden, keine Unterschiede gegenüber den gesäuerten und dann sofort extrahierten Organen. Die Verfasser geben als Erklärung dieses Verhaltens an, daß die Organe in ihrer Reaktion eben nicht überwiegend durch Carbonate und Kohlensäure, sondern vor allem durch Phosphate reguliert werden. Wie gering der Einfluß der Kohlensäure ist, geht auch aus meinen Beobachtungen hervor, daß es sich in bezug auf die nachherige Reaktion als völlig gleichgültig erwies, ob ich den Muskel 1, 2 oder mehr Minuten kochte.

Beispiel: Reaktion einer 2 Minuten gekochten Hälfte eines Muskels $p_H = 7,21$, Reaktion der anderen, 5 Minuten gekochten Hälfte $p_H = 7,25$.

Es wurde zumeist zwischen 1 und 2 Minuten gekocht.

Die Menge des zur Extraktion verwendeten Wassers hatte, wie es bei der Natur der die Reaktion bedingenden Puffersalze ja auch nicht anders zu erwarten war, keinen Einfluß auf die Reaktion. Zumeist wurden 10 ccm destilliertes Wasser auf die Unterschenkelmuskulatur oder für annähernd gleich große Mengen anderer Muskulatur verwandt. Doch war es ohne Einfluß auf die Reaktion, wenn bis zur 3fachen Menge Wasser verwandt wurde, ob der Extrakt nachträglich verdünnt oder gleich mit einer größeren Menge Wasser extrahiert wurde.

Je 2 g Muskulatur, mit 5 und 10 ccm Wasser extrahiert, ergaben die Werte 6,48 und 6,46. Je 3 g Muskel, mit 10 und 25 ccm Wasser, d. h. im Verhältnis zur geringen Muskelmasse also mit einer sehr großen, bei den Versuchen nie zur Anwendung gekommenen Menge von Wasser extrahiert, zeigten die Werte 6,99 und 6,96, sowie 6,91 und 7,00. Ein Extrakt, dessen Reaktion $p_H = 7,16$ war, gab im Verhältnis 1 : 1 verdünnt den Wert 7,18, im Verhältnis 1 : 2 den Wert 7,16. Ein anderer Extrakt mit dem Werte $p_H = 7,31$ gab 3fach verdünnt den Wert 7,23. Parallelmessungen ergaben innerhalb der Fehlerquellen identische Werte:

6,83	6,83
6,84	6,85
7,02	7,05
7,05	7,01
6,78	6,79

Zur Untersuchung wurden nur Rana temporaria verwandt, und zwar im ersten Teil der Arbeit Frösche, die bereits im Herbst gefangen waren, in der Gefangenschaft überwintert hatten und auch daher im Sommer ohne Nahrung geblieben waren. Sie waren zum Teil sehr schwach und zeigten bei der Verarbeitung geringe Unterschiede gegenüber den Fröschen, die erst im Sommer gefangen worden waren und bald danach untersucht wurden. Was die quantitative Menge der im Säurebildungsmaximum, d. h. bei Wärmestarre vom Muskel gebildeten Milchsäure anbetrifft, so hatten Fletcher und Hopkins Unterschiede zwischen Sommer- und Winterfröschen gefunden, insofern letztere mehr zu bilden vermochten. Hierdurch war aber von vornherein noch keineswegs gesagt, daß dies auch Differenzen bei der Reaktionsmessung ergeben müßte. Denn die Reaktion des Muskels wird nicht durch die Menge der gebildeten milchsauren Salze bedingt — um freie Milchsäure kann es sich bei den gefundenen Reaktionen überhaupt nicht handeln[1]) —, sondern durch das Verhältnis, in dem die milchsauren Salze zu den anderen Puffersalzen, also den Phosphaten, stehen. Sind nun letztere bei den Winterfröschen quantitativ ebenfalls vermehrt, so müßte sogar, um dieselbe Endreaktion zu erzielen, von den Tieren mehr Milchsäure gebildet werden. Die von Fl. und H. als Winterfrösche bezeichneten Tiere sind

[1]) Bei Ermüdung der Muskeln hatten Fletcher und Hopkins ungefähr 0,2% Zinklactat gefunden. Bei einer [H˙] von $p_H = 6$ bis 7 kann davon nur ca. $^1/_{300}$ auf freie Milchsäure entfallen, d. h. analytisch nicht nachweisbare Mengen.

übrigens mit den von mir späterhin so bezeichneten nicht absolut identisch, insofern sie ihre Tiere noch im Winter verarbeiteten.

Die Frösche, die zur Untersuchung kamen, vor allem auch die frisch gefangenen Sommerfrösche, hatten mindestens seit 14 Tagen unter völlig gleichen Bedingungen gelebt. Ausgeführt wurden die Untersuchungen bei Zimmertemperatur, die zwar im Laufe der Sommermonate Differenzen bis zu 5° unter den einzelnen Tagen zeigte. Doch konnte ich innerhalb dieser Schwankungen keinen Einfluß der Temperatur auf die Reaktionswerte, die unter physiologischen Bedingungen im Muskel vorkommen, konstatieren.

Reaktion der ruhenden Muskulatur.

Anfangs verwandte ich für die Ruhewerte der Muskulatur nicht curaresierte Frösche, sondern tötete die Tiere lediglich durch Scherenschlag und verarbeitete den Unterschenkel in der angegebenen Weise. Die erhaltenen Werte sind in der folgenden Tabelle III zusammengestellt.

Tabelle III.

Reaktion der ruhenden, aber nicht curaresierten Muskulatur.

p_H =	7,32	7,26
	7,25	7,17
	7,06	7,11
	7,41	7,13
	7,24	7,09
	7,29	7,36
	7,30	7,40

Im Durchschnitt 7,23 mit einer größten Abweichung von +0,18 und −0,17.

Da mir bei diesen Tieren die individuellen Schwankungen jedoch etwas groß erschienen und da die Tiere immerhin vor der Tötung einige Abwehrbewegungen gemacht, im Augenblick der Tötung aber die Beine stark gestreckt hatten, so setzte ich die Untersuchungen weiterhin an curaresierten Tieren fort, nachdem diese mindestens 1 Stunde lang bewegungslos geworden waren.

Die hierbei gefundenen p_H-Werte sind durchschnittlich größer, d. h. die Reaktion alkalischer, und liegen dichter beieinander (s. Tabelle IV).

Tabelle IV.

Reaktion der unter Curarewirkung stehenden Muskulatur.

	Winterfrösche		Sommerfrösche
1.	7,45	1.	7,40, 7,37
2.	7,39	2.	7,49, 7,50
3.	7,55	3.	7,44, 7,42, 7,55
4.	7,41	4.	7,36, 7,37, 7,35
5.	7,45	5.	7,37
		6.	7,42
		7.	7,37

Im Durchschnitt 7,43 mit einer größten Abweichung von + 0,12 und — 0,08.

Ob dieser Unterschied lediglich auf die erwähnten Bewegungen zurückzuführen ist, wird an späterer Stelle noch erörtert werden. Jedenfalls entsprechen die gefundenen Werte wohl ziemlich genau der Reaktion im absolut ruhenden Muskel. Einen Unterschied zwischen den alten und den frisch gefangenen Fröschen vermochte ich dabei nicht festzustellen, wie ebenfalls aus der Tabelle IV zu ersehen ist.

Vergleichende Messungen verschiedener Muskeln desselben Tieres gaben annähernd gleiche Werte (s. Tabelle V).

Tabelle V.

	Rechter Unterschenkel	Linker Unterschenkel	Beide Unterarme
1.	7,36	—	7,40
2.	7,12	—	7,09
3.	7,44	7,42	7,55
4.	7,36	7,37	7,35

Man ist also, was für die späteren Betrachtungen von Wichtigkeit ist, berechtigt, den bei einem Muskel eines Tieres gefundenen Ruhewert auch auf die anderen Muskeln, deren Reaktion nach Arbeitsleistung gemessen wurde, zu beziehen.

Erwähnen möchte ich hier bereits, daß in ganz gleicher Weise die Reaktion der völlig erschöpften Muskulatur bei den einzelnen Muskeln desselben Tieres die gleiche ist, während die Schwankungen der Reaktion im physiologisch nicht vorkommenden Säurebildungsmaximum, wobei der Muskel abstirbt, etwas größere sind.

Reaktion im physiologisch nicht vorkommenden Säurebildungsmaximum.

Verarbeitete ich die Muskulatur, ohne vorher die Fermente durch Kochen abzutöten, so erhielt ich selbstverständlich saurere Werte als die bisher angegebenen Ruhewerte. Der Grad der Säuerung hing von der Schnelligkeit des Arbeitens, von der Temperatur, aber auch davon ab, ob ich die abgeschnittenen Muskeln erst sammelte und dann in destilliertes Wasser tat, oder ob ich die einzelnen Stücke gleich ins Wasser warf. Das Wasser scheint den Säuerungsprozeß etwas zu hemmen. Die bei den einzelnen Tieren erhaltenen Werte differieren daher stark, und ich gebe die Zahlen nicht an, da diese Werte ja keinen physiologischen Verhältnissen entsprechen. Nur das eine sei erwähnt, daß auch hierbei verschiedene Muskeln desselben Tieres, in gleicher Weise und annähernd gleich schnell verarbeitet, wieder gleiche Werte ergaben (s. Tab. VI).

Tabelle VI.

1.	Obere Extremität	7,08
	Untere "	7,08
2.	Linker Oberschenkel	6,81
	Rechter Unterschenkel	6,79
	" Arm	6,87
	Linker "	6,82
3.	Rechter Arm	7,21
	Linker "	7,22

Der einmal gewonnene Extrakt säuerte übrigens nicht mehr weiter, ebensowenig wie der zerquetschte Muskelrückstand.

Extrakt gemessen nach 1 Std.	$p_H = 7{,}09$
" " " 2 "	$p_H = 7{,}09$
" " " 3 "	$p_H = 7{,}08$
" " " 7 "	$p_H = 7{,}09$
Muskelrückstand nach 7 Std. noch einmal extrahiert	$p_H = 7{,}09$

Ließ ich jedoch die zerschnittene Muskulatur längere Zeit stehen, so nahm die Säuerung allmählich zu, um nach ca. 10 Stunden konstant zu bleiben. Es säuerte eben, wie dies ja auch schon von anderen Autoren hervorgehoben war, lediglich der noch lebende Muskel, d. h. die säurebildenden Fermente sind an die noch lebensfähige Zelle gebunden. Bei der Quetschung aber scheinen die Zellen schnell und völlig abgetötet zu werden.

Tabelle VII.
Reaktion im Säurebildungsmaximum, herbeigeführt durch Wärmestarre.

	Dauer des Versuches	Oberschenkel	Arm
	A. Sommerfrösche.		
1.	2 Std.	r. 6,20	r. 6,34
	4 „	l. 6,22	l. 6,34
2.	1½ „	6,33	6,27
3.[1]	24 „	6,26	—
4.	1 „	r. 6,25	r. 6,30
	2 „	l. 6,16	l. 6,34
5.	1 „	r. 6,43	r. 6,44
	2 „	l. 6,42	l. 6,54
6.	1 „	r. 6,07	r. 6,10
	2 „	l. 6,10	l. 6,10
7.	1 „	r. 6,38	r. 6,41
	2 „	l. 6,38	l. 6,35
9.	4 „	6,42	6,43
10.	3½ „	6,39	—
11.	2 „	6,25	6,40
12.	1 „	—	r. 6,21
	2 „	r. 6,23	l. 6,24
	B. Winterfrösche.		
13.	3 Std.	6,83	7,07
	2 „	6,62	—
	1 „	6,26	—
	1½ „	—	6,72
	[1]) 24 „	r. 6,72	—
		l. 6,66	—
	3 „	6,65	—

War nun andererseits die Annahme richtig, daß es die [H˙] selber sei, die eine weitere Säuerung der Muskulatur im Säurebildungsmaximum verhinderte, so mußten die Reaktionen der Muskeln in diesem Maximum annähernd übereinstimmen. Dies Säurebildungsmaximum ist nun sehr einfach und schnell durch Wärmestarre von 40 bis 45° herbeizuführen. Die Muskeln kamen dabei in verschlossenen Reagensgläsern für 1 bis 2 Stunden in ein Wasserbad von 45°. Daß die in der Muskulatur dabei herrschende Temperatur tatsächlich zwischen 40 und 45° lag, wurde durch ein lediglich mit der Muskel-

[1]) Muskel haben unter Toluol gestanden, nachdem vorher festgestellt war, daß das Toluol der Säurebildung nicht schadet.

masse in Berührung befindliches Thermometer kontrolliert. Die bei Wärmestarre gefundenen Reaktionen sind in der vorstehenden Tabelle VII zusammengestellt.

Aus ihr ergibt sich zunächst, daß die frisch gefangenen Sommerfrösche durchschnittlich höhere Säurewerte zeigen, als die bereits seit Oktober hungernden Winterfrösche. Ob dies bei letzteren auf einem Mangel an säurebildender Substanz beruht, vermag ich nicht zu entscheiden. Jedenfalls hatten die „frisch" verarbeiteten Herbst- und Winterfrösche bei Fl. und H. quantitativ mehr Milchsäure zu bilden vermocht. Dieselbe Differenz der Reaktionen tritt übrigens später auch bei den im ganzen etwas weniger sauren Reaktionen zutage, welche die durch Arbeitsleistung erschöpfte Muskulatur zeigte, wie später noch genauer angegeben werden wird.

Sehr eng beieinander lagen nun die Grenzen der Säurewerte auch bei den Sommerfröschen nicht, was vielleicht gegen die Auffassung vorgebracht werden könnte, daß der Endpunkt der Säuerung auf einer Selbsthemmung der Fermente durch die von ihnen hervorgerufene H-Ionenkonzentration beruhe. Bei den einzelnen Tieren aber zeigen die verschiedenen Muskeln, vor allem aber symmetrische Muskeln sehr nahe beieinander liegende Werte.

Aus der Tabelle ergibt sich ferner, daß parallel mit den Befunden von Fl. und H. über die quantitative Menge Milchsäure die Zeit von 1 bis 2 Stunden zur maximalen Säurebildung ausreichte. Ich erhielt übrigens, ebenfalls in Übereinstimmung mit den genannten Autoren, annähernd dieselben Zahlen, wenn ich die Muskeln 10 bis 20 Stunden bei Zimmertemperatur stehen ließ.

Reaktion der durch Arbeit erschöpften Muskulatur.

Die Reizung der Muskeln geschah auf elektrischem Wege durch Einzelschläge, die sekundlich aufeinander folgten. Dabei hatte der Muskel ein kleines Gewicht zu heben.

Zur Beobachtung wurde wieder nur die Muskulatur des Unterschenkels verwandt, da ja auch hier die Muskelfermente vor der Verarbeitung unter den erwähnten Vorsichtsmaßregeln abgetötet werden mußten, diese sich aber einwandfrei nur am Unterschenkel durchführen ließen. Um den Muskel nicht zu

verletzen, wurde der Strom durch zwei in Salzlösung getauchte Schlingen zugeführt, von denen die eine um das Kniegelenk, die andere um die Fußwurzel geschlungen war. Die Frösche waren auf ein Brett gespannt, über dessen Kante der zu reizende Unterschenkel herabhing. In die Schwimmhaut war ein kleines Gewicht gehakt. Die Stärke der einzelnen Schläge konnte durch eine sekundäre Spule verstärkt werden.

Was die Reaktion der erschöpften Muskeln anbelangt, so konnte ich keinen Unterschied finden, ob ich einen Muskel längere Zeit mit schwächeren Strömen gereizt hatte und erst, wenn er nicht mehr reagierte, zu stärkeren Schlägen übergegangen war, oder ob ich von vornherein mit stärkeren Strömen gereizt hatte.

Ebenso war es in bezug auf die Endreaktion gleichgültig, ob ich vor der völligen Erschöpfung immer wieder kurze Erholungspausen eingeschoben hatte. Abgebrochen wurde der Versuch, wenn ich, selbst bei den stärksten Schlägen, nicht das kleinste Flimmern mehr beobachten konnte. Dann wurde die Blutzufuhr des gereizten Beines am Oberschenkel abgebunden, das Tier getötet, das Bein am Oberschenkel abgeschnitten und in siedendes Wasser geworfen, zur Reaktionsmessung dann nur der Unterschenkel verwandt. Die Vorsichtsmaßregel des Abbindens wandte ich an, da ich anfangs an einen großen Einfluß der Blutzirkulation glaubte und fürchtete, daß bei der Abnahme vom Brett und der Tötung das Blut wieder einen Teil der sauren Produkte fortschaffen könnte. Diese Vorsichtsmaßregel stellte sich später als unnötig heraus.

Tabelle VIII.

Reaktion der erschöpften Muskulatur bei Fröschen, die im Herbst gefangen und erst im Juni untersucht wurden.

a) Curarisiert		b) Nicht curarisiert	
6,83	(7,45)	7,04	(7,32)
6,88	(7,31)	6,86	(7,25)
7,23	(7,55)	7,26	(7,33)
		6,63	(7,06)
		6,90	(7,24)
		6,91	(7,41)
		7,04	(7,29)
Durchschnitt 6,98 mit den größten Abweichungen + 0,25 − 0,15		Durchschnitt 6,95 mit den größten Abweichungen + 0,31 − 0,32	

Tabelle IX.

Reaktion der erschöpften Muskulatur bei frisch gefangenen Sommerfröschen.

1.	6,80	r. Unterschenkel
	6,79	l. „
2.	6,79	(nicht curarisiert)
3.	6,87	r. Unterschenkel
	6,88	l. „
4.	6,89	r. Unterschenkel
	6,84	l. „
5.	6,88	
6.	6.86	
7.	6,75	
8.	6,84	

Durchschnitt 6,84 mit größten Abweichungen
+ 0,05
− 0,09

Die gewonnenen Zahlen sind in den vorstehenden beiden Tabellen VIII und IX zusammengestellt. Die eingeklammerten Zahlen sind die Ruhewerte des zum Vergleich untersuchten, ausgeruhten anderen Unterschenkels.

Wie oben bereits erwähnt, zeigte sich auch hier ein Unterschied zwischen den schon ziemlich schwachen Winter- und den Sommerfröschen, insofern erstere nicht so stark säuerten, d. h. ziemlich frühzeitig erschöpft waren und die erhaltenen Werte größere individuelle Schwankungen zeigten. Bei den frisch gefangenen Tieren aber liegen die Werte auffallend nahe beieinander. Völlige Übereinstimmung zeigen die Reaktionen der Unterschenkel je eines Tieres.

Einen Unterschied zwischen curarisierten und nicht curarisierten Fröschen vermochte ich hierbei nicht festzustellen.

Vergleicht man nun den durchschnittlichen Erschöpfungswert bei Sommerfröschen mit dem durchschnittlichen Ruhewerte, so ergibt sich ein Reaktionsunterschied von $p_H = 7{,}43$ und $p_H = 6{,}84$, d. h. die H-Ionenkonzentration verschiebt sich bei völliger Ruhe und völliger Erschöpfung der Muskulatur von $3{,}7 \cdot 10^{-8}$ bis $1{,}4 \cdot 10^{-7}$.

Wollen wir diese Zahlen annähernd durch die Reaktion einer Normalsäure bzw. Lauge ausdrücken, so können wir sagen, daß die Reaktion der Erschöpfung weniger sauer ist als eine $^{n}/_{1000000}$-HCl, die der Ruhe aber weniger alkalisch als eine

$^{n}/_{1000000}$-NaOH. So gering auch der Spielraum der Verschiebung erscheinen mag, so haben die Fermentuntersuchungen der letzten Jahre doch gezeigt, daß mit solchen Reaktionsänderungen erhebliche Differenzen in der Wirksamkeit von Fermenten verbunden sein können.

Im übrigen entsprechen die Zahlen annähernd den Reaktionen, die in den erwähnten Versuchen von Rona und Wilenko angewandt wurden, und diese hatten ja Unterschiede um etwa das 100fache im Zuckerverbrauch des Herzens ergeben, je nach der angewandten Reaktion.

Einfluß der Blutzirkulation auf den Eintritt der Erschöpfung und die dabei herrschende Reaktion.

Um den Einfluß der Blutzirkulation zu erkennen, stellte ich in zwei Richtungen Versuche an.

Schaffte das Blut tatsächlich in nennenswerter Weise die Ermüdungsstoffe fort, so mußte ein Muskel, der unter normaler Blutzirkulation stand, erheblich längere Zeit brauchen, bis er erschöpft war, als ein von der Zirkulation abgeschnittener Muskel, und andererseits mußte bei zeitlich und in bezug auf die Stärke gleicher Reizung der Muskel mit Blutzirkulation weniger sauer sein als ein anderer ohne Zirkulation.

Technisch ging ich dabei so vor, daß das eine Bein eines Frosches in der angegebenen Weise ermüdet, der Frosch dann getötet, das Bein abgetrennt und gekocht wurde, und unmittelbar daran anschließend das andere Bein dann in genau gleicher Weise gereizt wurde, nachdem es entweder vom Körper am Oberschenkel abgetrennt, oder aber nur abgebunden oder auch das Herz des Tieres herausgenommen war. Welche von diesen Arten der Zirkulationsunterbrechung ich anwandte, erwies sich als gleichgültig. Zu meiner Überraschung fand ich jedoch auch die anderen erwarteten Unterschiede nicht. Einerseits waren beide Beine, d. h. das mit und das ohne Zirkulation, bei gleicher Reizung nach annähernd der gleichen Zeit erschöpft. Es handelte sich höchstens um Unterschiede von 1 bis 2 Minuten auf eine Reizdauer von 10 bis 25 Minuten, dabei lagen diese Unterschiede nicht immer in gleicher Richtung. Doch gebe ich zu, daß es nicht immer leicht war, zu erkennen, ob wirklich die letzte minimalste Zuckung bereits aufgehört hatte.

Die Reaktion der erschöpften Muskeln war, wie vorauszusehen war, dabei fast völlig gleich; z. B.:

6,87	und	6,88
6,89	„	6,84
6,79	„	6,80

Andererseits aber waren die Säurewerte, wenn nur eine bestimmte Zeit hindurch mit einer bestimmten Anzahl von Schlägen gereizt worden war, ebenfalls ganz auffallend bei beiden Beinen übereinstimmend, und hier hatte ich größere Differenzen erwartet.

Tabelle X.

p_H-Werte bei in bezug auf Stärke und Anzahl gleichen Reizungen.

	a) Bein mit Blutzirkulation	b) Beine ohne Blut zirkulation
Reizung 7 Minuten	6,81	6,88
„ 5 „	7,01	7,03
„ 7 „	7,21	7,20
„ 7 „	6,73	6,90
„ 5 „	7,22	7,22

Nur der vorletzte Versuch zeigt einen deutlichen Unterschied.

Die Versuche waren wieder nur an curarisierten Tieren ausgeführt. Drei Versuche an nicht curarisierten Tieren ergaben einen noch auffallenderen Befund, insofern nämlich das unter Zirkulation stehende Bein saurer als das andere war.

In den beiden ersten Versuchen wurde jedesmal bis zur Erschöpfung gereizt. Die Reaktion der Schenkel mit Zirkulation ergab die p_H-Werte 6,73 und 6,79, die der Schenkel ohne Zirkulation die alkalischeren 6,87 und 6,98. In Versuch 3 wurde nur 10 Minuten, also nicht bis zur Erschöpfung gereizt. Die p_H-Werte waren 6,79 und 7,03.

Eine Erklärung dieser Befunde besteht wohl darin, daß bei den nicht curarisierten Tieren nicht allein der Muskel direkt, sondern auch vom Nerven aus gereizt wird. Diese Reize aber scheinen bei dem normal ernährten Nerven stärker und mithin aach die Muskelcontraction und die dabei sich abspielenden chemischen Prozesse ergiebiger zu sein. Andererseits bestände, da ja in den beiden ersten Versuchen bis zur Erschöpfung gereizt wurde, dann doch ein kleiner Unterschied zwischen curarisierter und nicht curarisierter Muskulatur, nur sind die Unterschiede so klein, daß sämtliche angeführten vier Zahlen innerhalb der überhaupt — sei es bei curarisierter oder

nicht curarisierter Muskulatur — beobachteten Reaktionen fallen (s. h. Tabelle VIII und IX).

Einfluß der Blutzirkulation auf die Erholungszeit und die dabei im Muskel eintretenden Reaktionsänderungen.

Hatte die Blutzirkulation auf die Reaktion und den Eintritt der Erschöpfung der Muskulatur tatsächlich so geringen Einfluß, so mußte dies sich auch in der Erholungszeit und der Reaktion eines während dieser Zeit vom Blut durchströmten und eines von der Zirkulation abgeschnittenen ermüdeten Muskels zeigen, d. h. es durften auch hierbei keine größeren Unterschiede sich bemerkbar machen.

Tatsächlich brauchten beide Muskeln sehr lange, bis sie sich erholten (bisweilen reichte eine Stunde nicht aus, doch war der Herzschlag der curarisierten Tiere sehr oft nicht ganz so kräftig wie bei normalen). Sprachen sie dann wieder auf Reize an, so contrahierte sich der Muskel mit Blutzirkulation meist stärker und sein Säurewert war auch geringer als der des anderen Beines ohne Zirkulation. Die bessere Ernährung machte sich also doch etwas bemerkbar. Daß auch der abgetrennte, aber unverletzte und überlebende Muskel seine Milchsäure teilweise wieder zum Verschwinden bringen kann (nach den Untersuchungen von Fl. und H.), ist bereits erwähnt worden. Reichte die Erholungszeit nicht aus, um den Muskel sich wieder contrahieren zu lassen, so entsprach sein Säurewert auch den schon früher bei Erschöpfung angegebenen. Es geht also Erholung und Abnahme der H-Ionenkonzentration annähernd parallel. Es scheint jedoch, als ob der erschöpfte Muskel in der ersten Zeit der Erholung zunächst noch weiter säuerte. Dafür sprach der Ausfall mehrerer Versuche, in denen ein Bein mit Zirkulation zunächst bis zur Erschöpfung gereizt und dann nach einer für erneute Contractionen noch nicht ausreichenden Ruhepause verarbeitet worden war, das andere Bein aber, vom Körper abgetrennt, sofort nach der Erschöpfung untersucht wurde. Das erste Bein ergab dann gewöhnlich einen allerdings nur wenig saureren Wert. Da die Versuche an curarisierten Tieren ausgeführt wurden, so fällt die andere Erklärungsmöglichkeit für die saurere Reaktion des unter Zirkulation stehenden Muskels hier wohl fort. Dagegen würde auch die Tatsache

sprechen, daß, wenn man das abgeschnittene Bein nach einer ebenso langen Pause untersuchte, die Werte wieder gleich waren. Voraussetzung aber für diese Befunde war, daß die Pause nicht für erneute Contraction ausgereicht hatte. In den folgenden Versuchsprotokollen sind die jeweiligen Verhältnisse mit der Angabe der gefundenen Werte näher dargestellt.

Versuch 1.

Beide Beine bis zur Erschöpfung gereizt. Das Bein mit Blutzirkulation wird nach Aufhören der letzten Zuckung vom Gewicht befreit und horizontal gelagert. Erholungspause 35 Minuten. Danach bei erneutem Reiz nur einmal ganz schwaches Flimmern des Gastrocnemius. Sofort verarbeitet. Das Bein ohne Zirkulation sofort nach der Erschöpfung verarbeitet. Reaktion des ersteren $p_H = 6{,}77$, des zweiten $p_H = 6{,}86$. Die 35 Minuten haben also zur Erholung nicht ausgereicht, weder was die erneute Anspruchsfähigkeit auf Reize, noch was die Reaktion anbetrifft. Dieser Versuch spricht vielmehr für eine Nachsäuerung in der ersten Zeit der Erholung, da das erste Bein den saureren Wert zeigte.

Versuch 2.

Anordnung genau die gleiche. Ebenso Verhalten der Muskulatur p_H des ersten Beines 6,67, des zweiten 6,74. Auch dieser Versuch spricht für eine Nachsäuerung, zumal ein so niederer Wert für p_H wie 6,67 sonst nur einmal gefunden worden war, wenn gleich nach der Erschöpfung die Reaktion gemessen worden war.

Versuch 3.

Völlig gleiche Werte trotz 10 minutlicher Erholungszeit nur des Beines mit Zirkulation. $p_H = 6{,}84$ und 6,84.

Versuch 4.

Die Muskeln nur zeitlich (4 Minuten) gereizt. Das Bein mit Zirkulation wird nach einer Erholungspause von 8 Minuten, das andere ohne Zirkulation sofort nach der Reizung verarbeitet. $p_H = 7{,}30$ und 7,35. Die Werte sind also fast gleich, eher ist auch hier das Bein mit Erholungszeit etwas saurer.

Versuch 5.

Reizung 7 Minuten, Erholungszeit des Beines mit Blutzirkulation 15 Minuten. Das andere, abgetrennte Bein sofort nach Aufhören der Reizung untersucht. $p_H = 6{,}97$ und 6,91. Hier hat die Erholungszeit ausgereicht, um die anfängliche Säuerung wieder zum Abnehmen zu bringen. Das erholte Bein ist weniger sauer.

Versuch 6.

Beide Beine bis zur Erschöpfung gereizt und bei beiden danach 15 Minuten gewartet. Pause genügt nicht, um den Muskel sich wieder

contrahieren zu lassen. p_H des Beines mit Blutzirkulation 6,71, des ohne 6,70. Auch dieser Versuch zeigt, daß der Einfluß der Zirkulation auf die Erholung nicht groß sein kann, da beide Beine gleiche Werte zeigen. Da beide Werte saurer sind als bei den früheren Untersuchungen, so ist wohl bei beiden Nachsäuerung eingetreten, doch ist diese nicht direkt nachzuweisen, da ja der Vergleich mit einem sofort nach Aufhören der Reizung untersuchten Muskel fehlt.

Versuch 7.

Beide Beine nur 7 Minuten gereizt, bei beiden 30 Minuten bis zur Verarbeitung gewartet. $p_H = 7{,}20$ und 7,22. Da die Werte gleich, zeigt sich auch hier kein Einfluß der Zirkulation.

Versuch 8.

Beide Beine bis zur Erschöpfung gereizt. Das Bein mit Zirkulation erholt sich in 30 Minuten so weit, daß es sich auf erneuten Reiz contrahiert. Das Bein ohne Zirkulation erholt sich nicht.

In diesem Versuch macht sich der Einfluß der Zirkulation geltend, insofern nur das Bein mit Zirkulation nach 30 Minuten wieder auf Reize reagiert. In Übereinstimmung damit ist auch sein Säurewert deutlich weniger sauer.

Versuch 9.

Beide Beine bis zur Erschöpfung gereizt. 20 Minuten Erholungszeit. Es reagiert danach wieder nur der Muskel mit Blutzirkulation auf erneuten Reiz mit deutlicher Zuckung, das abgetrennte Bein zeigt nur ein einmaliges leichtes Flimmern. $p_H = 6{,}74$ und 6,66. Auch hier ist daher die Reaktion des ersten Beines weniger sauer.

Fassen wir die Ergebnisse dieser Versuche noch einmal kurz zusammen, so läßt sich mit Sicherheit sagen, daß der Einfluß der Blutzirkulation auf die Erholung des Froschmuskels ein nur ganz geringer ist, und daß parallel mit der Erholung die [H˙] des Muskels wieder abnimmt. Ob eine Nachsäuerung im ersten Teil der Ruhe nach völliger Erschöpfung tatsächlich stattfindet, will ich nach dem Ausfall dieser Versuche nicht mit Sicherheit behaupten, da die Differenzen zu klein sind und nur durch Zufall bedingt sein können. Vergleicht man doch immerhin die Reaktionen zweier verschiedener Muskeln desselben Tieres. Was mich dennoch veranlaßte, aus den geringen Differenzen auf eine Nachsäuerung zu schließen, war der Ausfall der früheren Versuche, bei denen identische Muskeln desselben Tieres bei gleicher Reizung auch fast gleiche, jedenfalls bedeutend übereinstimmendere Reaktionswerte gezeigt hatten, und ferner die nach kurzer Erholung sehr niederen p_H-Werte,

die ich sonst nicht beobachtet hatte, wenn ich gleich nach der Erschöpfung untersuchte. Ich hoffe, daß ich diese Verhältnisse am Warmblütermuskel werde besser erkennen können.

Einfluß nur weniger Contractionen auf die Reaktion der Muskulatur.

In dieser Richtung wurden nur 3 Versuche angesetzt, und zwar wurde in den beiden ersten die Reaktion der Unterschenkelmuskulatur nach 7 bzw. 8 kräftigen Contractionen, in dem 3. Versuche nach 15 Contractionen gemessen und mit dem Ruhewerte des anderen Beines verglichen. Die p_H-Werte waren in den beiden ersten Versuchen bei beiden Muskeln gleich 7,41 und 7,41 (7,44 und 7,42), d. h. nach 7 bzw. 8 Contractionen konnte ich noch keine Säuerung nachweisen. Im 3. Falle waren die p_H-Werte = 7,27 und 7,37, d. h. die Muskulatur war nach 15 Contractionen bereits deutlich weniger alkalisch als in der Ruhe. Nur wenige Contractionen scheinen also noch nicht zu einer wesentlichen Reaktionsverschiebung zu führen. Verwenden wir diese Beobachtung nun noch einmal zur Beurteilung der Ruhewerte der curarisierten und nicht curarisierten Muskulatur, von denen ja die nicht curarisierte im Durchschnitt etwas weniger alkalische Werte gezeigt hatte, so wäre es also wohl möglich, daß diese geringere Alkalität nicht oder nicht allein auf die Abwehrbewegungen und die Todesstreckung zurückführbar ist, sondern daß vielleicht auch der Tonus der Muskulatur die im curarisierten Muskel ja beseitigt ist, hier eine Rolle spielt. Der Ruhewert der nicht curarisierten Muskulatur würde dann eventuell zwischen den beiden p_H-Werten 7,23 und 7,43 liegen, in dem letzterer der absolut — d. h. auch ohne den physiologischen Tonus — ruhig gestellten Muskulatur entspräche und ersterer durch einige Bewegungen bereits etwas zu sauer wäre.

Reaktion bei Strychnintetanus.

Zum Schluß wurde noch die Reaktion im Tetanus gemessen. 2 Tiere bekamen je 0,5 mg Strychnin. Das erste wurde untersucht, nachdem ungefähr alle 10 Minuten 4 Stunden hindurch Krämpfe bei ihm ausgelöst worden waren, und zwar unmittelbar nachdem das Tier durch einen Anfall erschöpft worden war. Es wurde jedoch nur das eine Bein in der üblichen Weise ver-

arbeitet, das andere wurde noch weiter elektrisch gereizt, bis es nicht mehr reagierte. Die Reaktion des ersten Beines, das also lediglich durch Krampfanfälle erschöpft war, war $p_H = 7,10$, das noch weiter elektrisch gereizte zeigte den Wert $p_H = 6,83$. Dieser Wert deckte sich mit dem sonst bei Erschöpfung gefundenen. Danach war der erste Muskel durch die Krampfanfälle bei weitem noch nicht erschöpft, obwohl für den Augenblick kein erneuter Anfall auszulösen war.

Das zweite Tier wurde nach völliger Erschöpfung untersucht, nachdem selbst eine $^1/_4$ stündige Pause nicht mehr ausgereicht hatte, um einen erneuten Krampf hervorzurufen.

Auch hier wurde ein Bein noch weiter elektrisch gereizt und dieses reagierte auch hier noch auf die Reizung. Die gefundenen p_H-Werte sind 6,98 für das lediglich durch Tetanus und 6,78 für das noch weiter durch elektrische Reizung erschöpfte Bein. Es zeigt das letztere den üblichen Erschöpfungswert, den das erste noch nicht erreicht hat. Da das Tier, wie gesagt, bereits so erschöpft war, daß trotz Erholungspause kein Anfall mehr ausgelöst werden konnte, so geht aus den Untersuchungen hervor, daß es nicht möglich war, durch Tetanus den Muskel so vollständig zu erschöpfen und seine Reaktion so sauer zu machen, wie dies bei Reizung durch den elektrischen Strom möglich gewesen war.

Anhang.

Da über die Reaktion von Warmblüterorganextrakten bereits einige Messungen vorliegen (Michaelis und Kramsztyk l. c.), so seien hier noch anhangsweise zum Vergleich einige Reaktionswerte angeführt, die ich für Froschleberextrakte erhielt. Die Lebern wurden gekocht, im Mörser mit 5 ccm Wasser zerstampft, coliert und der Extrakt gemessen.

7,19	7,29	7,25
7,01	6,90	7,02
7,08	6,90	7,34
7,03	6,95	
6,95	7,33	Im Durchschnitt
7,21	7,16	7,10.
7,11	7,01	
7,21	7,12	

Der Durchschnitt der Warmblüterorgan-, nicht nur Leberextrakte, lag bei ca. 7,0, also sehr ähnlich, doch waren die individuellen Schwankungen nicht so stark.

Die ad maximum gesäuerten Lebern zeigten folgende Werte:

6,98	6,92
6,82	6,89
7,01	6,56

Im Durchschnitt 6,86. Der Durchschnittswert bei Warmblütern war 6,5. Auch hier lagen die einzelnen Werte viel enger um den Durchschnittswert herum.

Reaktionsbestimmungen des Froschblutes stellte ich ebenfalls an, doch waren die Ergebnisse so überraschend, daß die Untersuchungen noch fortgesetzt und über sie besonders berichtet werden soll. Nur so viel sei hier bereits gesagt, daß bei Zimmertemperatur die Reaktionswerte saurer als die der ruhenden Muskulatur und zugleich saurer als die Werte des Warmblüters waren.

Beiträge zur Physiologie der Blutgerinnung.

IV. Mitteilung.

Von

L. Hirschfeld und R. Klinger.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Zürich.)

(Eingegangen am 29. September 1914.)

An der Bildung des die Blutgerinnung auslösenden Thrombins (Fibrinfermentes) sind zwei Substanzen beteiligt, die in Anwesenheit von Ca-Ionen miteinander reagieren, daß Cytozym und das Serozym.

Während wir die Natur des Serozyms noch nicht näher kennen (vermutlich ist es ein hochzusammengesetzter, eiweißartiger Körper des Plasmas), ist unsere Kenntnis vom Wesen des Cytozyms durch die Arbeiten der letzten Jahre, namentlich derjenigen von Bordet und Delange[1]) in hohem Maße gefördert worden.

Bordet und Delange haben gezeigt, daß sich das Cytozym aus Blutplättchen und verschiedenen Organen als koktostabiler Körper extrahieren läßt. Die weitere Analyse, die diese Forscher vornahmen, wies in diesen Extrakten bestimmte Lipoide, namentlich solche aus der Gruppe der Lecithine, als das wirksame Moment nach. Es ergab sich dabei, daß die fortschreitende Reinigung der alkoholischen Extrakte unter Entfernung der dem Lecithin ferner stehenden Lipoide mit einer Abschwächung ihrer Aktivität einhergeht, daß somit das reine Lecithin weniger wirksam ist als seine Mischung mit anderen, ihm ursprünglich beigemischten Substanzen.

Gleichzeitig mit Bordet und Delange hat Zak[2]) darauf aufmerksam gemacht, daß Lipoidzusatz zu einem recalcifierten Plasma, das spontan nach gewisser Zeit gerinnt, eine beschleunigte Gerinnung be-

[1]) Annales de l'Inst. Pasteur, XXVI. S. 657 u. 737. XXVII, S. 341.

[2]) Zeitschr. f. experim. Path. u. Pharm. 70, 1, 1913; 74, 27.

wirkt und daß andererseits das Plasma durch Behandlung mit Chloroform die Gerinnbarkeit verliere. Er schloß daraus gleichfalls, daß das Cytozym (Thrombokinase) ein Lipoid sei. Dem gegenüber hat Rumpf[1]) betont, daß ein mit Chloroform ausgeschütteltes Plasma auch dann nicht mehr gerinnt, wenn man ihm fertiges Thrombin in Form von frischem Serum zusetzt. Unserer Ansicht nach ist weder die von Zak noch die von Rumpf angewandte Technik geeignet, die Frage nach der Natur des Cytozyms exakt zu untersuchen. Der Nachteil der älteren Technik überhaupt ist es, mit nicht reinen, d. h. meist schon durch Cytozym, eventuell auch durch andere Substanzen verunreinigten Flüssigkeiten zu arbeiten und die Thrombinbildung und die Thrombinwirkung gleichzeitig vor sich gehen zu lassen. Dadurch ist eine genauere Analyse des untersuchten Vorganges meist nicht möglich und das Resultat kein eindeutiges. So kann z. B. die beschleunigte Gerinnung eines relativ stabilen Plasmas nach Zusatz einer bestimmten Substanz darauf beruhen, daß dieselbe selbst ein Cytozym ist, oder aber, daß sie das im Plasma vorhandene Cytozym in eine wirksamere Form bringt (was wieder auf verschiedene Weise geschehen kann); sie kann ferner eventuell vorhandene Hemmungen beseitigen oder auf das Thrombin einwirken und dieses verstärken usw.

Gegenüber dieser Versuchsanordnung bedeutet die von Bordet und Delange ausgebildete Technik einen wesentlichen Fortschritt. Kurz zusammengefaßt läßt sich dieselbe folgendermaßen charakterisieren:

1. Zerlegung des Gerinnungsvorganges in zwei sukzessive Phasen, nämlich in die Thrombinbildung und in die eigentliche Gerinnung.

2. Verwendung von reiner, d. h. nicht selbst schon cytozymhaltiger Serozymlösung.

Diese von Bordet und Delange angegebene, von uns in einigen Einzelheiten verbesserte Technik setzt uns in den Stand, die Gerinnungsvorgänge einer eingehenden Analyse zu unterwerfen und die jeweils beteiligten Faktoren qualitativ und quantitativ genau zu messen. Mit ihrer Hilfe kann z. B. mit aller wünschenswerten Exaktheit bestimmt werden, ob und in welchem Grade einer zu prüfenden Substanz Cytozymcharakter zukommt. Wir haben diese Technik in die serologische Forschung eingeführt und uns derselben als einer neuen Arbeitsmethode mit Vorteil bedient[2]).

[1]) Zeitschr. f. experim. Path. u. Pharm. 55.

[2]) So gelang es uns, eine Gerinnungsreaktion bei Lues zu finden. (Deutsche med. Wochenschr. 32, 1607, 1914.) Siehe ferner unsere Arbeiten in Zeitschr. f. Immunitätsforschg. 20, 41 u. 81; 21, 40; Berl. klin. Wochenschr. Juni 1914.

Anläßlich von Untersuchungen über die Beziehungen der Hämolyse zu gewissen Gerinnungsvorgängen haben wir es unternommen, verschiedene Seifen, speziell die so stark hämolytisch wirkende Ölseife, auf ihre Gerinnungsaktivität näher zu prüfen. Es ergab sich, daß ölsaures Natrium in wässeriger Emulsion ein recht wirksames Cytozym vorstellt. Wir verwendeten ein von Kahlbaum hergestelltes Präparat, von dem zunächst eine 1%ige Lösung in Methylalkohol angefertigt wurde; diese Stammlösung liefert durch zehnfache Verdünnung eine ganz schwach opalescierende wässerige Lösung. Hiervon werden fallende Mengen (0,5, 0,3, 0,1 ccm) mit physiologischer NaCl-Lösung auf 1,0 ccm aufgefüllt, hierauf 0,5 einer geeigneten Serozymlösung[1]), sowie 0,5 ccm einer Ca-haltigen Kochsalzlösung zugesetzt. Nach 15 Minuten wird als Reagens auf stattgehabte Thrombinbildung Oxalatplasma zugefügt. Die Röhrchen mit 0,5 und 0,3 ccm Seife gerinnen nach 4 resp. $4^1/_2$ Minuten, das Röhrchen mit 0,1 sowie die Kontrolle mit Serozym allein bleibt flüssig. Ohne Serozym oder mit einem serozymfreien Serum, z. B. Meerschweinchenkomplement versetzt, bewirkt die Seife keine Gerinnung des Plasmas.

Die Ca-Seife ist somit allein noch kein Thrombin sie bekommt ihre fällende Wirkung in bezug auf das Fibrinogen erst durch längeren (nicht momentanen) Kontakt mit Serozym. In Abwesenheit von Ca-Ionen reagieren Natronseife und Serozym nicht, eine Tatsache, die ebenfalls beweist, daß der uns beschäftigende Vorgang eine echte Thrombinbildung ist. Anstatt Oxalatplasma kann eine reine Fibrinogenlösung zur Anwendung kommen; auch dann tritt auf bloßen Zusatz von Kalkseife (ohne Serozym) keine Gerinnung ein.

Wir haben neben der Ölseife noch einige andere Natronseifen auf ihren Cytozymcharakter geprüft. Die folgenden Tabellen zeigen gleichzeitig und mit jeweils derselben Serozymlösung vorgenommene Untersuchungen verschiedener, teils gesättigter, teils ungesättigter Seifen sowie einiger anderer Cytozyme.

---

[1]) In betreff aller technischen Einzelheiten müssen wir auf unsere früheren Arbeiten, speziell auf die erwähnte Mitteilung in der Deutschen med. Wochenschr. verweisen.

Sämtliche untersuchten Stoffe werden zuerst in 1°/$_0$iger Lösung in Methylalkohol aufgenommen und hiervon durch zwanzigfache Verdünnung in destilliertem Wasser eine 0,5°/$_0$ige Konzentration erzielt; die sehr verschiedene Löslichkeit der einzelnen Seifen ist aus der Tabelle ersichtlich (Grad der Trübung). Von dem außerordentlich gerinnungsaktiven Meerschweinchenherzextrakt von Merck (sog. Syphilisantigen, eine 1°/$_0$ige Lösung der durch Extraktion mit Methylalkohol erhaltenen Lipoide) wurde 0,05 ccm in 10 ccm Wasser aufgenommen, die verwendete Konzentration ist daher zehnmal geringer als die der andern Substanzen. Von diesen Verdünnungen wurden Mengen von 1,0, 0,5, 0,25 und 0,1 in Röhrchen abgefüllt, mit phys. NaCl-Lösung auf 1 ccm ergänzt, 0,5 verdünnte Serozymlösung zugesetzt, hierauf die beiden ersten Dosen (1,5 und 0,5 ccm Seifenlösung) durch Zugabe von 0,1 resp. 0,05 ccm 10°/$_0$iger NaCl-Lösung isotonisch gemacht, dann zu allen Röhrchen 0,5 ccm einer Ca-haltigen NaCl-Lösung zugefügt, geschüttelt und 20 Minuten stehen gelassen, worauf verdünntes Oxalatplasma zugesetzt wurde. Die eingetragenen Zahlen bedeuten in Minuten die bis zum Eintritt der Gerinnung verflossene Zeit.

Protokoll 1a.

$\pm$ = unvollständige Gerinnung. Ger. = Gerinselbildung, Fibrinfetzen.
fl. = flüssig, keine Gerinnung (beobachtet 3 Std.)

Als Cytozym verwendeter Stoff:	Trübung in 1°/$_{00}$iger Emulsion in Wasser.	Tropfenzahl 17° C	Chemische Formel	Gerinnungszeiten – Verwendete Menge der Lösung 1,0	0,5	0,25	0,1 ccm
Ölsaures Na (Kahlb.)	zunächst fast 0, später langsame Trübung	147	$C_{18}H_{34}O_2$	4′	4′	15′	fl.
Stearinsaur. Na (Kahlb.)	allmähliche Trübung	70	$C_{18}H_{36}O_2$	45′	35′	60′±	fl.
Palmitinsaur. Na (Kahlb.)	sofort fein krystallinische stärkere Tr.	70	$C_{16}H_{32}C_2$	50′±	fl.	fl.	fl.
Erucasaures Na (Kahlb.)	schnell stärkere Tr.	81	$C_{22}H_{42}O_2$	25′	30	35	150′ Ger.
Elaidinsaur. Na (Kahlb.)	sofort starke, krystallinische Trübung	84½	$C_{18}H_{34}O_2$	30′	150±	150±	fl.
Capronsaur. Na (Kahlb.)	klar	64	$C_6H_{12}O_2$	50±	fl.	fl.	fl.
Lecithinum purissim. (Merck)	Spur opalescent	64	—	30′	40′	40′	150′ Ger.
Meerschweinchenherzextrakt (alkoh.) Merck.	Spur opalescent	79	—	1′	1′	1′	2½′
Kontrolle 5°/$_0$igen Methylalkohol in Wasser	klar	64½	—	fl.	—	—	—

Protokoll 1b.

10d später mit den gleichen alkoh. Lösungen (aber mit frisch bereiteten Emulsionen und anderem Serozym) wiederholt.

	Menge der Emulsion:		
	1,0	0,5	0,25 ccm
Ölsaures Na	$4^1/_2$	4	fl.
Stearinsaures Na	25	30	fl.
Palmitinsaures Na	fl.	fl.	fl.
Erucasaures Na	$4^1/_2$	5	13
Elaidinsaures Na	fl.	fl.	fl.
Capronsaures Na	fl.	fl.	fl.
Lecithin	$5^1/_2$	7	25

Wie aus den Tabellen ersichtlich, hatten die von uns bisher untersuchten Seifen eine recht ungleiche Gerinnungsaktivität. Unter sich verglichen, sind es die Ölseife und das erucasaure Natrium, die sich vor den übrigen als gute Cytozyme auszeichnen. Es muß jedoch bemerkt werden, daß Emulsionen derselben Seifen häufig in verschiedenem Grade wirksam sind; es spielt hierbei die relative Seifenkonzentration und der Salzgehalt des zur Emulgierung resp. Lösung verwendeten Mediums (s. u.) eine Rolle, ferner das Alter der wässerigen Emulsionen: nach längerem Stehen werden dieselben unwirksam. Diese Veränderung ist von einer zunehmenden Trübung begleitet, die in manchen Fällen, z. B. bei Erucasäure, bis zur Ausscheidung grober Flocken fortschreiten kann.

Protokoll 3.

Frisch bereitete und 2 Stunden alte 0,5‰ige wässerige Lösungen von oleinsaurem und erucasaurem Na und von Lecithin werden mit je 0,5 ccm Serozym und 0,5 ccm der Ca-NaCl-Lösung versetzt. Alle Röhrchen auf 2 ccm ergänzt und isotonisch gemacht.

	Frische Lösung			2 Std. alte Lösung		
	Menge der Seifenemulsion in ccm					
	1,0	0,5	0,25	1,0	0,5	0,25
Oleinsaures Na	4′	4′	fl.	2′	$2^1/_2$′	fl.
Erucasaures Na	6′	12	30′	fl.	fl.	fl.
Lecithin	5′	25′	40	$5^1/_2$′	7′	25

Die Ölseife und die Lecithinemulsion zeigen nach 2 Stunden eine mäßige Verbesserung, das erucasaure Na dagegen ist unwirksam geworden. Länger gestandene Ölseifenlösung wird gleichfalls unwirksam.

Die erwähnten Befunde weisen darauf hin, daß der jeweils erzielte Dispersitätsgrad der Seifenemulsionen für die Wirkung derselben von Einfluß ist. Wir haben einige diesbezügliche Versuche in der Weise vorgenommen, daß Ölseife in Wasser mit steigendem NaCl-Gehalt emulgiert wurde. Während sich in destilliertem Wasser eine 1 ‰ige Seifenlösung (aus 1 %iger Methylalkohollösung) fast ohne sichtbare Trübung des Mediums herstellen läßt, tritt bei zunehmendem Kochsalzgehalt eine Trübung auf, die bei 0,4 bis 0,8 % NaCl langsam erfolgt und nur mäßige Grade erreicht, bei 1,5 bis 2 % dagegen schnell bis zu milchweißer Verfärbung der Emulsion fortschreitet. Noch höherer Salzgehalt bedingt Auftreten von feinen Flöckchen in der stark trüben Flüssigkeit. Das folgende Protokoll zeigt einen Versuch, in dem derartige, in verschiedener Salzkonzentration hergestellte Emulsionen auf ihren Cytozymcharakter verglichen wurden.

Protokoll 4.

1 ‰ige Lösungen von Na-Oleinat in Wasser, ferner in 0,4, 0,8, 1,6, 2,5 und 5,0 % NaCl; davon je 0,5 ccm + 0,5 Serozym + 1 Tropfen $CaCl_2$-Lösung, hierauf sofort durch Auffüllen mit entsprechenden Mengen Wassers resp. Salzlösung alle Röhrchen auf eine Konzentration von 0,8 % NaCl und auf ein Volumen von 3 ccm gebracht.

Gerinnungszeiten:

	Ursprüngliche NaCl-Konzentration der Emulsion					
	0	0,4	0,8	1,6	2,5	5,0 %
Gerinnung nach .	1 1/2′	10′	6′	3 1/2′	3′	5 1/2′

Das Protokoll zeigt eine bessere Wirkung der in destilliertem Wasser sowie der in etwas höheren Salzkonzentrationen angesetzten Seifenemulsionen, während geringgradiger Salzgehalt ungünstiger war. Es dürfte dies darauf hinweisen, daß neben dem Salzgehalt noch ein anderer Faktor für die Wirkung der Emulsion Bedeutung hat (Dissoziationsgrad?). Es sei aber bemerkt, daß wir eine derartige Gesetzmäßigkeit nicht immer in der gleichen Weise beobachtet haben, vielmehr lag manchmal das Optimum wieder bei anderen Salzkonzentrationen. Worauf es uns hier ankommt, ist nur zu zeigen, daß je nach der gröberen oder feineren Emulgierung der Seife deren Cytozymwirkung wechselt.

Wir konnten alle Eigenschaften, die das natürliche Cytozym des Serums oder dasjenige von Extrakten aufweist, auch am Seifencytozym wiederfinden. So wird bekanntlich das Cytozym des Serums durch Erhitzung des letzteren auf 56° zum größten Teil zerstört; das gleiche gilt für die Wirksamkeit der Seife als Cytozym, wenn sie einem Serum zugesetzt wird. In rein wässeriger Lösung sind dagegen die Seifenemulsionen ähnlich den natürlichen Extraktcytozymen hitzeresistent. Durch Spaltung eines cytozymhaltigen Serums in Globulin- und Albuminfraktion gelingt es, das Cytozym fast vollständig mit der Globulinfraktion auszufällen; ebenso verhält sich zugesetzte Seife.

Protokoll.

4 ccm aktives Rinderserum werden mit 1 ccm 1%iger wässeriger Ölseifenlösung vermischt. Als Kontrolle dient Rinderserum ohne Seifenzusatz. Von beiderlei Art von Rinderserum wird ein Teil ½ Stunde auf 56° erhitzt und dann die verschiedenen, erhitzten oder unerhitzten, Seren auf Cytozymgehalt geprüft. Zu je 0,4 ccm Serum kommt 1,0 ccm Ca-haltige NaCl-Lösung und 0,5 ccm Serozym. Nach 20 Minuten Oxalatplasma.

	Serum digeriert	
	mit Serozym	ohne Serozym
0,4 ccm Serum mit Seifenzusatz	5'	25 ±
0,4 „ „ ohne „	60 ±	fl.
Serum erhitzt 56° ½ Std. mit Seifenzusatz	fl.	—
„ „ 56° ½ „ ohne „	fl.	—

Das gleiche Rinderserum (1,0 ccm) mit und ohne Seifenzusatz gespalten nach Sachs (9faches Volumen n/300 HCl). Die Globuline abzentrifugiert und in 1,0 ccm NaCl-Lösung gelöst. Davon gerinnt 0,1 ccm mit Serozym und Ca-Lösung:

Globuline aus Seifenserum . . . . . 4'
„ „ Kontrollrinderserum . 11'

Die Albumine beider Seren (nach Aussalzen mit Serozym versetzt) geben keine Gerinnung, sind also so gut wie cytozymfrei.

Da die Fettsäuren mit Calcium schwerlösliche Seifen bilden, lag es nahe, die Rolle dieses Metalls, das bekanntlich zum Zustandekommen der Gerinnung unerläßlich ist, bei Verwendung von Seifencytozymen näher zu untersuchen. Es erhob sich vor allem die Frage, ob nicht die Thrombinbildung auch in Ca-ionenfreiem Medium stattfinden würde, wenn schon fertige Ca-Seife mit Serozym zusammengebracht, somit ein Cytozym

verwendet würde, welches das Ca schon gebunden enthielte. Es wurde nach dem für Härtebestimmungen von Wasser üblichen Verfahren festgestellt, wieviel $CaCl_2$ zur Ausfällung aller in einer Seifenlösung enthaltenen Seife erforderlich sei. 1 Tropfen $CaCl_2$ benötigte ca. 8 ccm einer $1^0/_{00}$igen Seifenemulsion, entsprechend 0,8 cm der $1^0/_0$igen alkoholischen Lösung. Es wurde nun zu je 1 ccm dieser alkoholischen unverdünnten Lösung 1 Tropfen $CaCl_2$-Lösung zugesetzt, wodurch ein Überschuß von Na-Seife bestehen blieb. Die stark trüb gewordene alkoholische Seifenlösung wurde dann, wie üblich, 10 fach mit Wasser verdünnt, wobei eine milchig trübe, sehr feine Ca-Seifenemulsion resultiert; diese wurde einerseits mit Ca-freiem Serozym, andererseits unter Calciumzusatz (im Überschuß) auf Thrombinbildung geprüft. Es ergab sich, daß ohne ionisiertes, überschüssiges Ca keine oder nur eine ganz unbedeutende Thrombinentstehung zu beobachten ist. Ähnlich fielen Versuche mit mehrmals gewaschenem und wieder emulgiertem Ca-Seifenniederschlag aus. Es folgt daraus, daß das ionisierte Ca auch dann noch zur Thrombinbildung notwendig ist, wenn fertige Ca-Seife als Cytozym dient, daß die Rolle des Ca somit bei der Gerinnung nicht damit erschöpft sein kann, daß es eine Ca-Seifenbildung veranlaßt.

Für die Thrombinbildung mit Seife ist der Moment, wann die Ca-Lösung zugesetzt wird, von Wichtigkeit. Am günstigsten ist es, wenn dies geschieht, nachdem Seife und Serozym bereits gemischt sind. Das Serozym als kolloidale Lösung schützt dann die Seife vor gröberer Ausflockung durch das Ca; möglicherweise reagiert es am besten mit dem Cytozym im Moment der Kalkseifenbildung. Diese Verhältnisse illustriert z. B. der folgende Versuch:

Protokoll.

In 2 Röhrchen kommt je 0,5 ccm einer $1^0/_{00}$igen Na-Ölseifenlösung + 1,0 ccm physiol. NaCl-Lösung. In das erste wird sofort 0,5 ccm Serozym gegeben, vermischt und nach 30 Sekunden 1 Tropfen $1^0/_0$ige $CaCl_2$-Lösung zugesetzt; das zweite Röhrchen erhält zuerst die Ca-Lösung und nach 30 Sekunden das Serozym. 15 Minuten später wird zu beiden Röhrchen 1,0 ccm Oxalatplasma zugesetzt.

Röhrchen 1 ergibt Gerinnung nach 7 Minuten, Röhrchen 2 ist noch flüssig nach 30 Minuten.

Eine Schädigung des Seifencytozyms durch vorherigen Kontakt mit Ca tritt jedoch nicht immer ein; je nach dem Dis-

persitätsgrad der Seifenemulsion kann unter Umständen sogar eine Verstärkung derselben beobachtet werden, wie folgender Versuch zeigt:

Protokoll.

1 ‰ige Emulsionen von Na oleinic. in Wasser, in 0,8 und 1,5 %ige NaCl-Lösung. Zu je 0,5 ccm wird in verschiedener Reihenfolge 0,5 ccm Serozym und 1,0 ccm $CaCl_2NaCl$-Lösung zugesetzt; zum Schluß werden alle Röhrchen durch Zusatz von hypertonischer NaCl-Lösung resp. von destilliertem Wasser auf 0,8 % NaCl gebracht.

Reihenfolge der Zusätze zur Seife	Ursprüngliche Salzkonzentration der Seifenemulsion		
	0	0,8	1,5 %
a) Serozym + $CaCl_2$	5′	6 1/2′	4′
$CaCl_2$ + Serozym	2′	12′	5′
b) Serozym + $CaCl_2$	20′	26′	5 1/2′
$CaCl_2$ + Serozym	20′	60′	26′

Versuch b wurde mit den gleichen Lösungen einige Zeit später angestellt, wobei der Kontakt von Seife mit der $CaCl_2$-Lösung (vor dem Serozymzusatz) etwas länger war (3 Minuten).

Es zeigt sich, daß die höher disperse, rein wässerige Lösung durch den vorherigen Ca-Zusatz nicht leidet, bei kürzerem Kontakt sogar deutlich verbessert wird, während für die gröber disperse Emulsion das Gegenteil zutrifft.

Da die Seifen in hohem Maße die Oberflächenspannung des Wassers beeinflussen, haben wir untersucht, ob im Verlaufe der Thrombinbildung mit dem Stalagmometer nachweisbare Veränderungen beobachtet werden konnten. Wird die Tropfenzahl einer Mischung von Ölseife und Serozym mit und ohne Zusatz von Ca geprüft, so ergibt sich zwar, daß bei Anwesenheit von Ca (also unter Bedingungen, unter denen Thrombinbildung stattfindet) die Tropfenzahl nicht unwesentlich abnimmt. Führt man den gleichen Versuch aber mit einem serozymfreien Serum (Meerschweinchenkomplement) aus, so erhält man ganz gleiche Zahlen, obwohl in diesem Falle trotz Ca-Zusatz jede Thrombinbildung ausbleibt. Die Zunahme der Oberflächenspannung kann daher nur auf die Eliminierung eines Teiles der Seife in Form schwer löslicher Ca-Seife, nicht aber auf eine eventuell stattfindende Thrombinbildung, bezogen werden. Umgekehrt läßt sich bei der Reaktion von stark verdünnten Lösungen von Herzextrakt mit Serozym keine Änderung in der Oberflächenspannung nachweisen, obwohl hierbei sehr intensive

Thrombinbildung stattfindet. Es war somit nicht möglich, den Vorgang der Thrombinentstehung mit der Oberflächenspannung der betreffenden Lösungen in Zusammenhang zu bringen.

Auch das die Oberflächenspannung herabsetzende Vermögen verschiedener Cytozyme geht keineswegs mit ihrer Aktivität parallel. Während der Ölseife in dieser Hinsicht die stärkste Wirkung zukommt, wird sie als Cytozym von den die Oberflächenspannung viel weniger beeinflussenden Organextrakten bei weitem übertroffen. Unsere Lecithinemulsion, obwohl gerinnungsaktiv, veränderte die Tropfenzahl gegenüber der Kontrolle überhaupt nicht. Wir haben die diesbezüglichen Zahlen in der Tabelle I angegeben, sie bedeuten die Tropfenzahl von 0,5 ‰ wässerigen Lösungen (mit 5 % Gehalt an Methyalkohol).

Auf welcher chemischen Eigenschaft die besondere Aktivität der Ölseife (und der Erucaseife) beruht, können wir vorläufig nicht entscheiden. Daß nicht nur die Zahl der Kohlenstoffatome ausschlaggebend ist, geht aus der geringen Wirksamkeit der Stearinseife hervor. Vielleicht könnte der Umstand, daß beide Cytozyme zu den ungesättigten Fettsäuren gehören, von Bedeutung sein; allerdings war eine dritte von uns geprüfte, ungesättigte Säure (Elaidinsäure) nicht deutlich aktiv. Es mag dies aber darin seine Erklärung finden, daß die Na-Seife dieser Säure in Wasser (und noch mehr bei Salzzusatz) sehr schnell ausfällt. Ein weiteres, nicht unwichtiges Moment liegt in der verschiedenen Alkalinität der einzelnen Seifen. Hierauf soll in einer folgenden Mitteilung näher eingegangen werden.

Gegenüber den Organextrakten, die, wie die Tabelle zeigt, in 10fach kleinerer Dose noch bedeutend stärker wirken, scheint der Cytozymcharakter der von uns geprüften reinen Seifen nur geringfügig. Während die Grenze der mit unserer Technik deutlich nachweisbaren Cytozymmenge für Ölseife bei 0,1 bis 0,2 mg liegt, geben von dem Merckschen Herzextrakt noch 0,005 bis 0,001 mg nach 10 bis 30 Minuten Gerinnung des Oxalatplasmas.

Setzt man zu einer Ölseifenemulsion eine Emulsion von Cholestearin zu, so ergibt sich eine wesentliche Verstärkung der Cytozymwirkung; ähnliches konnte auch gegenüber anderen Cytozymen, z. B. für Lecithin, beobachtet werden. Cholestearin allein hat hingegen fast keine Gerinnungsaktivität. Es ist somit möglich, daß der in Organ-

extrakten vorhandene Cholesteringehalt für die starke Wirksamkeit derselben mit in Betracht kommt (der Mercksche Herzextrakt erhält z. B. einen künstlichen Zusatz von Cholesterin).

Protokoll.

1 ‰ige Emulsion von Ölseife in 0,8%iger NaCl-Lösung. Reihe 2 erhält Zusatz von je 0,2 ccm einer 1‰igen Emulsion von Cholesterin (aus 1%iger methylalkoholischer [warmer] Lösung). Hierzu 0,5 Serozym, 1 Tropfen $CaCl_2$-Lösung und NaCl-Lösung auf 2 ccm aufgefüllt.

	Menge der Ölseife			
	1,0	0,5	0,3	0,2 ccm
1. Ohne Cholesterin	8′	12′	90′ ger.	fl.
2. Mit 0,2 ccm Cholesterinemulsion	2′	2′	4′	60′
Cholesterinemulsion allein (mit Serozym)	fl.	—	—	—

Wir beabsichtigen in weiteren, gemeinsam mit Dr. E. Herzfeld begonnenen Untersuchungen den chemischen Grundlagen dieser und ähnlicher Erscheinungen nachzugehen; hierbei soll speziell die Frage untersucht werden, ob die beschleunigte Gerinnung auf einer vermehrten Thrombinbildung oder auf einer größeren Fällbarkeit des Fibrinogens beruht.

Als die vorliegenden Untersuchungen bereits abgeschlossen waren, erschien in Form einer vorläufigen Mitteilung eine Arbeit von B. Stuber und R. Heim[1]) über „Fettsäuren und Blutgerinnung". Die daselbst mitgeteilten Befunde decken sich teilweise mit den unsrigen, insofern als ebenfalls den Fettsäuren resp. den Ca-Seifen eine Bedeutung bei der Gerinnung zuerkannt wird. Im übrigen haben die Verfasser hauptsächlich die Rolle gewisser Lipasen bei der Gerinnung studiert; da sie aber mit der alten Technik (s. o.) arbeiten und die genaueren Protokolle noch ausstehen, ist es uns nicht möglich, zu entscheiden, ob es sich in ihren Versuchen um eine Steigerung der Thrombinbildung oder um eine Zunahme der Thrombinwirkung handle. So haben wir in noch nicht veröffentlichten Versuchen gefunden, daß eine andere Lipase, das Kobragift, die Thrombinentstehung aus Organextrakten vollständig hemmt, jedenfalls durch Zerstörung des Cytozyms, während der Zusatz dieses Giftes zum fertigen Thrombin die Gerinnung eher fördert.

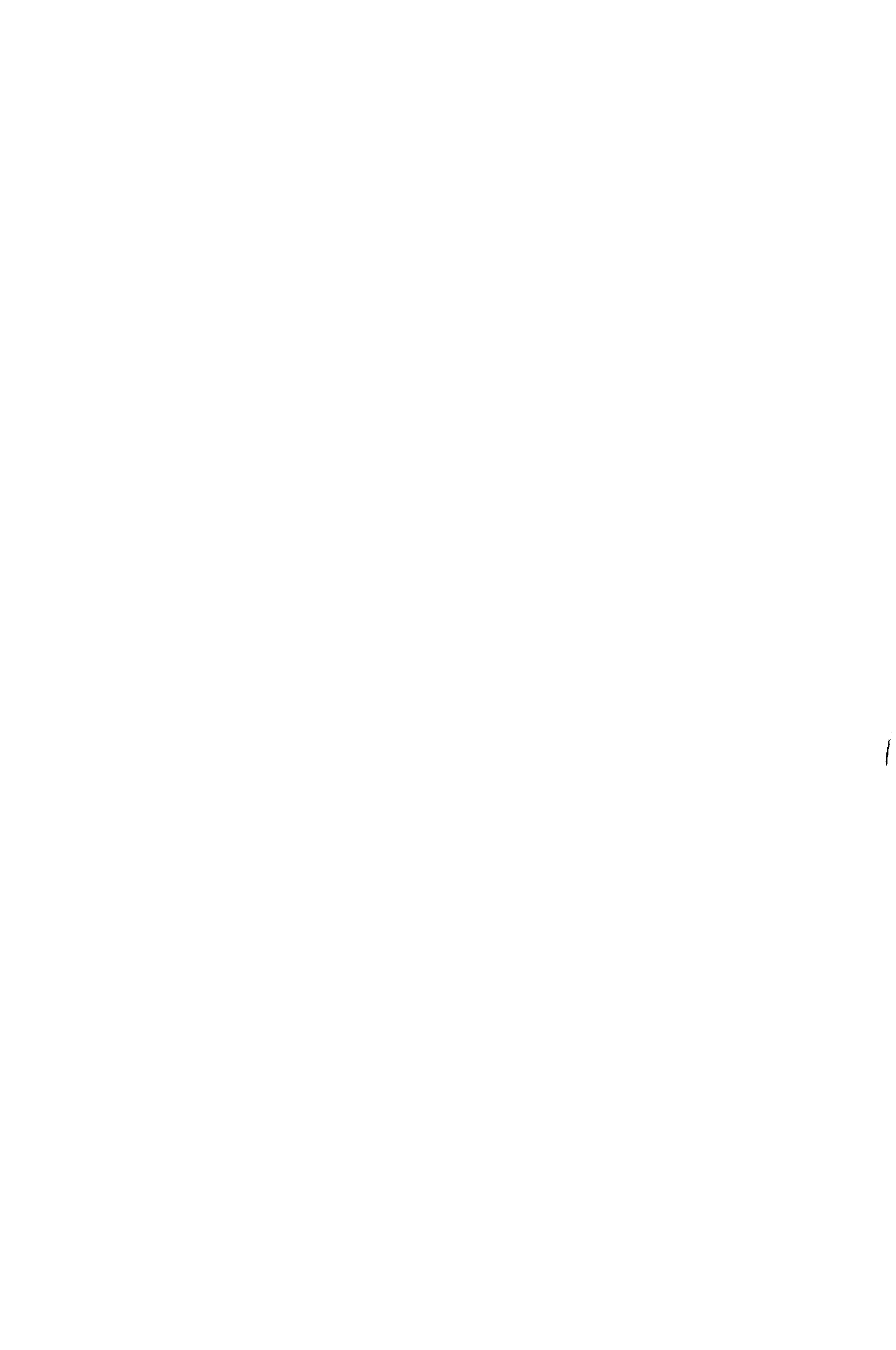
In der von den Verfassern gegebenen theoretischen Erklärung des Gerinnungsvorganges können wir den Autoren allerdings nicht folgen. Nach ihrer Annahme würde das im Plasma vorhandene Fett, das mit dem Thrombogen (Serozym) identifiziert wird, durch einen fermentartigen Körper (Thrombokinase) gespalten; die hierbei auftretenden Fettsäuren

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1914, Nr. 30, S. 1661; Berl. klin. Wochenschr. 1914, Nr. 33, S. 1565.

sollen mit Ca-Salzen zusammen als Thrombin wirken, d. h. das Fibrinogen fällen. Nach den oben mitgeteilten Untersuchungen ist dies jedoch nicht der Fall: auch bei Verwendung fertiger Ca-Seifen ist das Serozym zur Gerinnung unerläßlich. Andererseits konnten wir bei der Thrombinbildung eine Aufspaltung von Fetten, die im Stalagmometer zum Ausdruck kommen müßte, nie nachweisen. Wenn somit auch im Serozym oder im Plasma Lipasen nachgewiesen würden, die durch Spaltung von Fetten und dadurch bedingte Seifenbildung gelegentlich die Gerinnung beeinflussen können, so würde es sich hierbei nur um einen Nebenbefund handeln, der die eigentliche Funktion des Serozyms nicht berührt. Für die von den Verfassern angenommene Fettnatur des Thrombogens (Serozyms) sind bisher keinerlei Anhaltspunkte gegeben; hingegen geht aus den eingangs erwähnten Arbeiten, sowie aus unseren eigenen Untersuchungen mit Sicherheit hervor, daß echte Lipoide als Cytozym wirken können. Es dürfte somit vorläufig kein Grund vorliegen, unsere theoretischen Ansichten über den Gerinnungsvorgang im Sinne von Stuber und Heim zu modifizieren.

Zusammenfassung.

Reine Natronseifen bestimmter Fettsäuren stellen ein wirksames Cytozym dar. An denselben konnten alle Eigenschaften nachgewiesen werden, die den natürlichen Cytozymen (Plättchen- oder Organextrakten) eigen sind (Termostabilität in reinem Zustande, Thermolabilität im Serum, Fällbarkeit mit den Globulinen u. a).



Über die quantitative Bestimmung der Milchsäure in Organextrakten als Kohlenoxyd.

Von

Richard Meissner.

(Aus den Pharmakologischen Instituten zu Berlin und Breslau.)

(Eingegangen am 6. September 1914.)

Mit 1 Figur im Text.

Der Beginn folgender Versuche führt zurück bis zum Jahre 1908, bis zu jener Zeit, in der Milchsäure quantitativ wohl ausschließlich als Zinksalz bestimmt wurde. Die Arbeiten von v. Fürth-Charnaß und Embden über Milchsäurebestimmung waren noch nicht bekannt, die von Jerusalem gerade veröffentlicht; der letzteren zu folgen schien damals aber wenig ratsam, weil der Verfasser zu seinen Versuchen zwei ziemlich teure Apparate brauchte. Es sollte gerade ein wichtiges Ziel meiner Arbeit sein, mit den gewöhnlichen Laboratoriumsgeräten eine neue brauchbare quantitative Milchsäurebestimmung zu physiologischen Zwecken und eine Kontrollmethode für die ältere Zinklactatwägung zu gewinnen. Die im Jahre 1903 als Bonner Dissertation gedruckte Arbeit W. Hübners: „Die Milchsäure, ein Beitrag zur Kenntnis ihres Vorkommens und ihrer Bestimmung im Wein“ schien dazu nicht ungeeignet. Ich habe versucht, die dort beschriebene Methode für physiologische Zwecke nutzbar zu machen, bin aber dabei auf erhebliche Schwierigkeiten gestoßen. Im folgenden will ich kurz die Wege skizzieren, die ich einschlug, um Milchsäure quantitativ als Kohlenoxyd in physiologischen Substraten zu bestimmen. Denn abgesehen von der Isolierung der Milchsäure durch Destillation mit überhitzten Dämpfen beruht die Hübnersche Ausarbeitung hauptsächlich auf der Zerlegung der Milchsäure durch Schwefel-

säure in Kohlenoxyd, Kohlensäure und Acetaldehyd, und diese fußt wieder auf einer Beobachtung von J. Pelouze, die besagt: „Vermischt man Milchsäure oder milchsaures Salz mit einem 5- bis 6 fachen Gewicht Schwefelsäure und setzt das Gemenge einer gelinden Wärme aus, so stellt sich alsbald ein lebhaftes Aufbrausen ein, indem sich eine reichliche Menge Kohlenoxyd entwickelt."

Die Zersetzung eines Lactats mittels verdünnter Schwefelsäure erfolgt nicht quantitativ, wohl aber erreichte Hübner gute Werte, als er konzentrierte H_2SO_4 benutzte. Er stellte dazu folgenden Versuch an:

10 ccm einer Milchsäurelösung von bekanntem Gehalte werden mit einem geringen Überschuß Barytlösung versetzt, auf dem Wasserbade $^1/_2$ Stunde erhitzt und hierauf in einem Fraktionskölbchen bei mäßiger Wärme im Vakuum verdampft. Nachdem der Inhalt des Kölbchens vollständig trocken ist, befestigt man das völlig erkaltete Kölbchen luftdicht an einem mit Wasser gefüllten Nitrometer. Der Hals des Fraktionskölbchens wird mit einem Tropftrichter versehen, mit dessen Hilfe man zu dem Rückstand einige Kubikzentimeter konzentrierter Schwefelsäure fließen läßt und darauf die Verbindung zwischen Kölbchen und Nitrometer herstellt. Durch vorsichtiges Erhitzen mit einer kleinen Bunsenflamme leitet man die Reaktion ein. Das sich entwickelnde Kohlenoxyd drängt eine entsprechende Menge Luft in das Nitrometer. Die Reaktion verläuft schnell und glatt. Das Ende derselben ist deutlich zu erkennen, indem sich das Reaktionsgemisch vollständig beruhigt. Um es von schwefliger Säure und Kohlensäure zu befreien, wird das Gas mit $30^0/_0$iger Natronlauge gewaschen, nach einstündigem Stehen das Volumen des entstandenen Kohlenoxyds bestimmt und unter Berücksichtigung der Temperatur und des Luftdruckes die Berechnung ausgeführt. Die Reaktion verläuft in dem Sinne, daß ein Molekül Kohlenoxyd einem Molekül Milchsäure entspricht, so daß man den Vorgang durch die Gleichung ausdrücken kann:

$$C_3H_6O_3 = C_2H_4O + H_2O + CO.$$

Diese Spaltung des Milchsäuremoleküls nahm auch ich als Grundlage meiner Analyse, nur arbeitete ich schon beim ersten

Versuch im Kohlensäurestrom, fing ferner das Kohlenoxyd nicht im Wasser, sondern über 50%iger Kalilauge auf und leitete dasselbe zuletzt noch in ammoniakalische Kupferchlorürlösung, um eventuelle Verunreinigungen so abzuscheiden. Ich beschritt somit an dieser Stelle — unbewußt — den gleichen Weg, den Paris[1]) ging, der auch die Hübner-Partheilsche Arbeit zum Ausgangspunkt seiner Studien nahm. Dieselben kamen mir aber erst zu Gesicht, als dieser Teil meiner Arbeit schon lange befriedigende Resultate gab. Es gelingt auf diese Weise ebenso gute Werte zu erzielen wie Hübner sie erhielt.

Die Bestimmung der Milchsäure in reinem Zustande auf diese Weise stößt also auf kein Hindernis. Schwieriger gestaltet sich schon die Beantwortung der Frage: „Wie läßt sich am besten Milchsäure aus einer wässerigen Lösung rein gewinnen?" und am kompliziertesten ist die quantitative Isolierung der Säure aus tierischen Substraten. Dieser letzte Punkt wird später eingehend zu behandeln sein; hier möchte ich hervorheben, daß es mir nicht wie Hübner gelungen ist, Milchsäure aus ihrer wässerigen Lösung durch Destillation mit überhitzten Wasserdämpfen quantitativ zu scheiden. Es war ganz gleichgültig, ob der Destillationskolben mit der Milchsäurelösung im Wasser-, Öl- oder Luftbad verschieden hoch erhitzt, ob der Überhitzer auf 100°, 200° oder höher gehalten und ob die ganze Apparatur in dicke Tücher eingehüllt wurde oder nicht; wirklich befriedigende Werte erhielt ich bei der darauffolgenden Titration des Destillats mit n-KOH (in Berücksichtigung der Lactonbildung nach Wislicenus) nicht.

Ich ging deshalb zur Ätherextraktion über, und nach vielfachen Versuchen erhielt ich die besten Resultate, wenn ich eine Lactatlösung unter Zusatz von Phosphorsäure aus Gips extrahierte. (Einen Linde-Extraktionsapparat darf man wohl nicht zu den gewöhnlichen Laboratoriumsgeräten rechnen.)

Es ist hier vielleicht die geeignete Stelle, eine Extraktion und Analyse der Milchsäure zu schildern, wie ich sie zuerst durchführte.

Die Lactatlösung in toto, oder, bei größerer Menge, ein aliquoter Teil derselben, wurde auf dem Wasserbad in einem

[1]) Le stazioni sperimentali agrarie italiane **40**, fasc. 8 bis 12.

Porzellan- oder Glasschälchen zur Sirupdicke eingedampft, mit ungefähr 5 ccm offizineller Phosphorsäure versetzt und dann mit einer Messerspitze wasserfreiem Gips angerieben. Allmählich gibt man soviel Gips zu (ca. 15 bis 20 g), daß ein lockeres, nicht zusammenklebendes Pulver entsteht, bringt dasselbe in eine Schleichsche Extraktionshülse und diese wieder in einen genügend großen Soxhlet-Extraktionsapparat. Bei meinen Versuchen mit Lösungen von reinem Li. lact. genügten 7 bis 9 Stunden einer mittelschnellen Extraktion, um die Milchsäure quantitativ in den Äther überzuführen[1]).

Bei Organ- und Blutextrakten brauchte ich fast die doppelte Zeit, und es war vorteilhaft, die Extraktion hierbei ein- bis zweimal zu unterbrechen und die Gipsmischung von neuem zu verreiben. Die Embdenschen Versuche dieser Richtung kann ich durchaus bestätigen. Nach dieser Zeit wurde der Äther verdampft, der Rückstand entweder direkt zur Bestimmung verwendet oder mit Überschuß von Barytwasser aufgenommen und die so entstandene milchsaure Barytlösung auf dem Wasserbade bis zum völligen Trocknen erhitzt. Das (Jenenser!) Kölbchen mit der Milchsäurelösung oder dem Bariumlactat wurde nun mit einem dreifach durchbohrten Gummistopfen luftdicht verschlossen, durch dessen eine Bohrung ein ca. 25 ccm fassender Scheidetrichter ging. Die anderen beiden Bohrungen dienten zum Zu- und Ableiten der Gase; das Zuleitungsrohr war durch Gummischlauch mit einer oder zwei konzentrierte H_2SO_4 enthaltenden Drechselschen Flaschen und diese mit einem Kippschen Apparate verbunden, in dem Kohlensäure aus ausgekochtem Marmor und HCl entwickelt wurde; das Ableitungsrohr führte zu einem längeren Gummischlauch und dieser zu einem Nitrometer, der mit 50%iger KOH beschickt war. Die ganze Versuchsanordnung wird wohl am besten aus nebenstehendem Bild (Fig. 1) ersichtlich. In der gewöhnlichen Weise wurde nun das ganze System unter CO_2 gesetzt und dann mit Entwicklung des Kohlenoxyds begonnen. Vorsichtig setzt man dem Bariumlactat erst wenig, dann eine größere Menge konzentrierte Schwefel-

[1]) Neuberg und Langstein (s. Neuberg, Der Harn. S. 249) extrahieren die Milchsäure im Soxhlet aus einem Gemisch mit entwässertem $CuSO_4$ oder Na_2SO_4 unter Zusatz von $KHSO_4$.

säure zu und unterstützt nach einer Weile die sofort beginnende Gasentwicklung durch vorsichtiges Erwärmen. Schon bei 100° ist die Entwicklung meist beendet; ich erhitzte oft die Schwefelsäure bis zum Sieden und erhielt auch hierbei trotz der sich bildenden SO_2 gute Zahlen. Hat man so das Kohlenoxyd entwickelt, so läßt man noch einige Minuten Kohlensäure durch das System gehen und bringt dann den gut abgebundenen Nitrometer in die Nähe eines Barometers. Nach 1 Stunde liest man Temperatur, Luftdruck und das Volumen der verdrängten

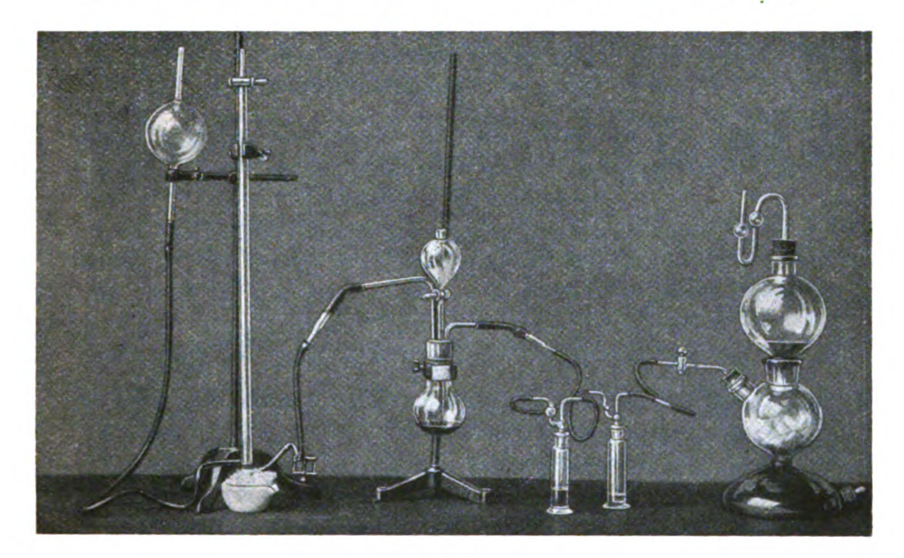


Fig. 1.

Kalilauge ab und überführt das manchmal nicht reine Gas in einen zweiten, mit frischer ammoniakalischer Kupferchlorürlösung beschickten Nitrometer. Die Differenz zwischen den Gasgemengen in beiden Nitrometern gibt das Volumen des reinen CO an. Benutzt man bei einer Reihe schnell hintereinander folgender Versuche dieselbe, möglichst luftfreie Kohlensäure (wie oben) und sorgt für häufige Erneuerung der Kupferchlorürlösung, so bekommt man fast genau übereinstimmende Werte in den beiden Nitrometern, so daß unter solcher Voraussetzung die Kontrolle mit der Kupferlösung sich erübrigt. Ich habe sie aber fast durchweg meinen Bestimmungen angeschlossen. Einige Zahlen mögen meine Ergebnisse bis hierher erläutern:

A. Ätherextraktion aus Gips.

1. 0,4956 g einer Milchsäure, von der 0,99 g genau 10 ccm 0,1 n-KOH binden, werden mit ca. 30 g Gips vermischt, in eine Extraktionshülse gebracht und im Soxhlet-Extraktionsapparat 8 Stunden mit Äther extrahiert. Dann wird der Äther verdampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und am Rückflußkühler mit 0,1 n-KOH im Überschuß $^1/_2$ Stunde gekocht und mit 0,1 n-H_2SO_4 zurücktitriert.

Es wurden gebunden: 4,7 ccm.

Es wurden also in 8 Stunden **94%** der angewandten Milchsäure extrahiert.

2. 0,217 g milchsaures Lithium 7 Stunden unter Zusatz von 5 g offizineller Phosphorsäure extrahiert und weiter wie oben behandelt, ergab Bindung von 2,22 ccm 0,1 n-KOH, berechnet 2,23.

Es wurden also **100%** der Milchsäure wiedergefunden.

B. Zersetzung der Milchsäure in milchsauren Salzen durch konzentrierte Schwefelsäure und Bestimmung des sich dabei bildenden Kohlenoxyds.

1. Angewendet 0,0992 milchsaures Lithium = 0,093 Milchsäure.
   Erhalten 21,6 ccm reines CO bei 776 mm und 17° entsprechend 0,090 Milchsäure = 93,32%.
2. Angewendet 0,165 g milchsaures Lithium.
   Gefunden 37,2 ccm CO bei 775 mm und 19° = 96,68%.

C. Extraktion nach A mit anschließender Bestimmung nach B.

1. Angewendet 0,2322 Li lact.
   Nach 7stündiger Extraktion gefunden: 47,7 ccm CO = **88,8%**.
2. Angewendet 0,207 Li lact.
   Nach 13stündiger Extraktion gefunden: 48,0 ccm CO = **99,43%**.
3. Angewendet 0,1992 Li lact.
   Nach 15stündiger Extraktion gefunden: 47,0 ccm CO = **101,15%**.

Diese Zahlen genügten, um zu dem Hauptziele dieser Arbeit überzugehen: zur Bestimmung der Milchsäure „in physiologischen Extrakten". Ich betone an dieser Stelle nochmals, daß die nun zunächst folgenden Ausführungen 5 bis 6 Jahre zurückliegen und also in einer Zeit entstanden, wo die Methode Fürth-Charnaß und die diesbezüglichen Beobachtungen Embdens noch nicht bekannt waren. Da die Zinklactatmethode als Vergleichsbestimmung ziemlich unzuverlässig ist, konnte ich mir nur durch Zusatz von bekannten Mengen Milchsäure oder eines Lactats zu einem vorher bestimmten physiologischen Extrakt ein Urteil über den Wert der Milchsäurezersetzung in Kohlenoxyd bilden.

Als Leitmotiv bei allen Milchsäurebestimmungen galt früher die Warnung, sich vor der Flüchtigkeit der Milchsäure zu hüten. Ich habe deshalb damals immer in alkalischer Lösung gearbeitet (siehe später).

Als zweitwichtigster Punkt kam beim Arbeiten mit physiologischen Extrakten eine gute Enteiweißung in Frage. Bei Muskel- und Leberauszügen habe ich heiß enteiweißt (Kochen der wässerigen Lösung, Eindampfen derselben und Aufnehmen des Rückstandes mit absolutem Alkohol). Bei den Blutanalysen versuchte ich zunächst das Eiweiß auch heiß mit Monokaliumphosphat und daran anschließend mit molybdänsaurem Ammon und mehrmaliger Alkoholdekantierung zu fällen. Dieses Verfahren hatte aber starke Verluste an Milchsäure im Gefolge. Noch schlechtere Ergebnisse hatten Versuche mit kolloidalem Eisenhydroxyd oder Kaolin.

Besser kam ich zum Ziele durch kalte Fällung mit Sublimat + Salzsäure [nach Schenk[1])] — wie sie Embden auch mit Erfolg anwendete —, schließlich durch frisch bereitetes salpetersaures Quecksilberoxyd nach Patein und Dufau[2]). Es ergaben sich jedoch wieder verschiedene Werte für Milchsäure, je nachdem das Quecksilber entfernt wurde. Es seien nur folgende Zahlen angeführt:

1. Eiweiß gefällt mit $HgCl_2 + HCl$; Hg gefällt mit H_2S
   a) 80%, b) 87%,
2. Eiweiß gefällt mit $Hg(NO_3)_2$; Hg gefällt mit H_2S
   a) 85%, b) 82%,
3. Eiweiß gefällt mit $Hg(NO_3)_2$; Hg gefällt mit $SrCO_3$
   75%,
4. Eiweiß gefällt mit $Hg(NO_3)_2$; Hg gefällt mit NaOH
   a) 84%, b) 87%, c) 75%, d) 91%, e) 94%.

Die Versuchsanordnung 4 ergab also hier die befriedigendsten Zahlen; bei größeren Versuchsreihen würden sich wohl auch die Durchschnittszahlen von 1 und 2 verbessern lassen.

D. Bestimmung der Milchsäure im Blute.

Eine solche gestaltete sich folgendermaßen: 50 ccm defibrinierten Blutes werden mit der gleichen Menge destillierten Wassers

[1]) Abderhalden, Biochem. Arbeitsmethoden 2, 184.

[2]) Ebenda 2, 183.

und unter stetem Umschütteln mit 40 ccm einer nach Patein und Dufau frisch bereiteten Mercurinitratlösung versetzt. Den sich scheidenden voluminösen Niederschlag, der sämtliche stickstoffhaltigen Substanzen in sich schließt, filtriert man ab, wäscht ihn ein paar Mal mit Wasser nach und fällt im Filtrat das Quecksilber mit Natronlauge. Dieser Niederschlag wird wieder abfiltriert und das nicht zu stark alkalische Filtrat auf dem Wasserbade eingedampft, der Rückstand 3 mal mit heißem Alkohol ausgezogen und die alkoholische Lösung völlig eingeengt. Der Rückstand wird weiter so extrahiert und behandelt wie unter C. Bei drei aufeinanderfolgenden Versuchen desselben Blutes (je 50 ccm) erhielt ich auf diese Weise:

1. 8,0 ccm CO
2. 8,6 „ „
3. 8,0 „ „

Zu 50 ccm dieses Blutes 0,3250 Li lact. = 0,304 Ac. lact. zugesetzt und wie oben behandelt ergab

80,5 ccm reines CO bei 776 mm und 20°.
Davon ab 8,0 „
72,5 ccm = 0,291 Ac. lact. = 95,8 %.

Auf gleiche Weise bekam ich bei Zusatz von

a) 0,2142 Li lact. 55 ccm bei 776 mm + 15°
— 8 „
47 ccm = 94 %.

Diese entsprechen a) 91 % der angewandten Milchsäure.

b) 0,2202 Li lact. 57 ccm bei 761 mm + 22°
— 8 „ Normalmilchsäure
49 ccm = 94,5 %.

E. Bestimmung der Milchsäure in der Leber.

100 oder 200 g Leber werden in der Fleischhackmaschine zu einem Brei zerkleinert, mit 1 l Wasser aufgeschwemmt und mit Natriumcarbonatlösung alkalisch gemacht. Nach 1/2 stündigem langsamen Kochen dieser Mischung wird durch ein Leinentuch gegossen, der Rückstand scharf abgepreßt und der so getrennte Rückstand noch 3 mal 1/2 Stunde in der gleichen Weise behandelt. (Auch 2 mal 2 stündiges Kochen ergab gute Resultate.) Die von den vier Dekantierungen resultierende Flüssigkeit wird

eingedampft, der Rückstand 3mal mit heißem Alkohol ausgezogen und das alkoholische Filtrat auf ein bestimmtes Quantum aufgefüllt. Es ist nötig, diese Lösung nach 2 bis 3 Tagen nochmals zu filtrieren, oder sie nach Abkühlung im Eis zu zentrifugieren.

Setzt man zu solchem alkoholischen Leberauszug, dessen Gehalt an Milchsäure man kennt, eine bestimmte Menge eines Lactats und analysiert dessen Milchsäuregehalt in der oben angegebenen Weise, so läßt sich die Milchsäure leicht quantitativ darin nachweisen.

Zum Beispiel wurde zu einem alkoholischen Leberauszug, der einem normalen Milchsäuregehalt von 29,5 ccm CO entsprach, hinzugefügt:

1. 0,1000 Li lact.

Erhalten: 54,7 ccm CO bei 750 mm + 10° = 96,49 %.

In 6 ähnlichen Versuchen wurden von der angeführten Milchsäure 88 bis 100 %, im Mittel 94,2 % wiedergefunden.

F. Bestimmung der Milchsäure in den Muskeln.

100 g feinst zerkleinerte Muskelsubstanz werden in schwach alkalischer Lösung 4mal 1/2 Stunde mit je 1 l Wasser genau so ausgezogen und in alkoholischer Lösung darauf ebenso bestimmt, wie dies bei der Bestimmung der Milchsäure in der Leber angegeben wurde.

Beim Zusatz von Lithiumlactat zum Alkoholauszug erhielt ich Werte, die zwischen 96 und 98 % der zugesetzten Milch säure schwankten.

Aus diesen Versuchen ergibt sich:

1. Die Ausätherung organischer Flüssigkeiten mit Gips ist verläßlich.

2. Man kann nach der angegebenen Methode zu einem Organextrakt zugesetztes Lactat quantitativ wiederfinden.

3. Von den verschiedensten Enteiweißungsmethoden haben sich beim Blute am besten die Fällung mit Quecksilbernitrat und Quecksilberchlorid bewährt.

Zwischen den eben geschilderten Ergebnissen und den folgenden Versuchen liegt eine Unterbrechung von mehreren Jahren, die durch äußere Verhältnisse verursacht wurde.

Seit dem Erscheinen der ausgezeichneten Arbeiten von Fürth und von Embden über Milchsäurebestimmungen in organischen Substraten war es möglich, den bis dahin weitangelegten Plan enger zu fassen, da sich nun meine Werte durch die Analyse nach Fürth und Embden jederzeit kontrollieren ließen. Ich beschäftigte mich von dieser Zeit an ausschließlich mit der quantitativen Milchsäurebestimmung in wässerigen Fleischabkochungen. v. Fürth und Charnaß[1]) hatten gefunden, daß der nach ihrer Analyse gefundene Milchsäuregehalt eines Muskelextraktes sich genau mit dem durch Titration erhaltenen Werte deckt. Diese Angaben kann ich bestätigen, da ich hierbei auch übereinstimmende Werte fand. Embden hebt allerdings hervor, daß bei der Titration möglicherweise Phosphate, bei der Analyse unter Umständen Zucker die Werte etwas zu hoch erscheinen lassen können und fordert auf jeden Fall die Ausätherung. Mondschein[2]) anderseits behauptet, daß der Säuregehalt der Bouillon nicht den gesamten Milchsäuregehalt des Muskels darstellt. Wie dem auch sei, jedenfalls durfte ich bei meiner Methode **nicht mehr** Milchsäure auf Kohlenoxyd berechnet finden als der Titer der Bouillon angibt. Wenn ich die nach der Fürthschen Methode oder durch Titration erhaltenen Analysenergebnisse mit meinen durch Kohlenoxydbestimmungen erhaltenen Zahlen verglich, so fand ich bei letzteren fast immer zu viel.

Nach diesen Erfahrungen, die ihre Erklärung fanden in der Warnung Embdens, bei der Milchsäurebestimmung in glykogenhaltigen Flüssigkeiten alkalisch reagierende Lösungen zu vermeiden, habe ich von nun an das Auskochen des Fleisches und das Eindampfen der Bouillon nur bei saurer Reaktion vorgenommen. Teils bediente ich mich des Alkohols, teils des Wassers als Extraktionsmittel. Die Eiweißkörper wurden entweder nach Schenk mit Sublimat oder durch Alkohol entfernt. Ich kann dem Leser die Schilderung der zahlreichen Versuche ersparen, die ich unter den verschiedensten Bedingungen angestellt habe. Bisweilen ergaben sich ganz brauchbare Zahlen für Milchsäure, die mit denen nach der Fürth-Charnaßschen Methode ziemlich gut übereinstimmten.

[1]) Diese Zeitschr. 26, 199, 1910.

[2]) Ebenda 42, 105, 1912.

Daneben aber fanden sich häufig zu hohe Werte, die darauf schließen ließen, daß noch andere Substanzen als Milchsäure Kohlenoxyd geliefert hatten. Vor allem ließ sich aber feststellen, daß ein zu häufiges Abdampfen in saurer Lösung einen nicht unbedeutenden Verlust an Milchsäure bedingte.

Schließlich ist es mir doch gelungen, eine Bouillon so von störenden Substanzen zu befreien, daß die darin befindliche Milchsäure sowohl als CO wie als Acetaldehyd bestimmt werden kann. Die wichtigsten Punkte dieser Reinigung sind folgende: 1. Alles Eiweiß und Glykogen durch Alkohol entfernen; 2. die Milchsäure mit Äther extrahieren und 3. sie schließlich von den mitextrahierten Fetten und fettähnlichen Substanzen durch Lösung in kaltem Wasser isolieren. Die auf solche Weise gefundenen Doppelwerte stimmen meist unter sich und mit dem Säuretiter der Bouillon überein; sie werden auf folgende Weise erhalten:

Methode:

100 ccm Bouillon oder weniger[1]) werden mit der 4- bis 5fachen Menge absolutem Alkohol versetzt und nach 1- bis 2stündigem Stehen in der Kälte filtriert. Dem Filtrate wird nochmals ungefähr $^1/_5$ (nicht zu wenig) Alkohol hinzugefügt und die eventuell neu entstandene Trübung nach mehreren Stunden abfiltriert. Das völlig klare Filtrat wird mit Na_2CO_3 alkalisch gemacht und in einer Schale auf dem Wasserbade bis gerade zur Trockne eingedampft. (Vorsicht, daß der Alkohol nicht überkriecht.) Der Rückstand wird mit 4 bis 5 ccm $25^0/_0$iger H_3PO_4 gleichmäßig verrieben und diese Mischung mit ein paar Löffeln Alabastergips versetzt. Man wartet einige Minuten, damit die Flüssigkeit gut in den Gips einzieht und verreibt das Gemisch vorsichtig zu einem trocknen, gleichmäßigen Pulver. Die Menge des Gipses muß nach der Größe der Extraktionshülse bemessen werden, in die man das Pulver jetzt quantitativ überführt. Die Gipsmischung wird darauf 20 bis 24 Stunden (mit einmaliger Unterbrechung und nochmaliger Verreibung des Pulvers) ausgeäthert, der Äther (unfiltriert!) abgedampft und der Rückstand mit zirka 30 bis 40 ccm H_2O auf-

[1]) Zu größeren Mengen hat man zu viel Alkohol nötig; es ist deshalb ratsam, die Bouillon in konzentrierter Form zu bestimmen.

genommen und $^1/_2$ bis 1 Stunde auf Eis gestellt. Dann wird klar filtriert, nachgewaschen, mit Na_2CO_3 gut alkalisch gemacht und die nach $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde meist sich bildenden Ausflockungen abfiltriert. Das so erhaltene Filtrat soll wasserhell und ganz klar sein. Ist es stark gelb gefärbt, so reinigt man es noch mit wenig Blutkohle. Gewöhnlich aber ist das nicht nötig, und man kann ohne weiteres in der einen mit H_2SO_4 angesäuerten Hälfte die Milchsäure nach Fürth-Charnaß, in der anderen, alkalischen, die man quantitativ in ein weithalsiges, ungefähr 200 ccm fassendes Jenenser Kölbchen überspült, sie als Kohlenoxyd bestimmen (s. S. 178 bei „Das (Jenenser) Kölbchen usw.").

Ich belege diese Angaben mit folgenden Zahlen:

A. Bouillon aus Hundefleisch:

25 ccm derselben brauchen 3,9 $^n/_5$-NaOH zur Binduug (mit Phenolphthalein titriert).

Nun binden 16,7 $^n/_{10}$-NaOH = 0,15 Milchsäure[1])
7,8 „ = 0,07 „

Abgesehen von Luftdruck und Temperatur ergeben 0,1 Milchsäure nach der Zersetzung mit konz. H_2SO_4 zirka 25 ccm CO.

0,07 Milchsäure entsprechen also 17,5 ccm CO.

25 ccm der Bouillon sind also = 0,07 g Milchsäure = 17,5 ccm CO.
45 „ „ „ „ „ = 0,126 g „ = 31,5 „ „

Von obiger Bouillon wurden 90 ccm verarbeitet.

Es ergab sich hierfür

für die eine Hälfte:

a) als CO bestimmt:
= 32,4 ccm
— 1,4 „ nicht von der Kupferchlorürlös. resorbiert
31,0 ccm statt 31,5 = 98 %.

für die andere Hälfte:

b) nach Fürth als Acetaldehyd[1]):
20 K. bisulf. = 33,5 $^n/_{10}$ J.
— 8,0 nicht gebd. Kal. bisulf.
25,5 · 4,5
1020
1275
11475
= 0,115 = 91 %
= 0,12 = 95 %
Milchsäure.

B. Bouillon aus Hundefleisch:

25 ccm Bouillon titriert = 2,9 ccm $^n/_5$-NaOH
= 0,052 g Milchsäure
= 13,0 ccm CO.

---

[1]) Siehe b. Neubauer in Abderhalden, Bioch. Arbeitsmethoden **5**, 1256.

Von dieser Bouillon wurden 50 ccm verarbeitet und außerdem 5 ccm einer Milchsäurelösung zugesetzt, von der 5 ccm, mit Na_2CO_3 alkalisch gemacht und eingedampft, ergeben:

a) 12,4 ccm CO
b) 12,1 „ „

Aus 50 ccm Bouillon + 5 ccm Milchsäurelösung ist also in diesem Falle zu erwarten:

26,0 ccm CO
+ 12,4 „ „
38,4 ccm CO
für die Hälfte = 19,2 „ „

Es wurden erhalten

a) für die Hälfte als CO:
= 18,6
— 0,6
= 18,0 statt 19,2 = 94 %

b) nach Fürth:
22 K. bisulf. = 40,2
— 26,2
14,0 · 4,5
= 0,063 statt 0,076
= 83 %.

C. Rinderbouillon:

50 ccm = 5,5 n/5-NaOH
= 0,099 g Milchsäure
= 24,75 ccm CO.

a) 50 ccm direkt nach Fürth-Charnaß bestimmt ergaben: 0,1 g Milchsäure = 100 %.

b) 100 ccm nach der oben ausgeführten Methode gereinigt und die so gereinigte Lösung

zur Hälfte als CO bestimmt:
= 24,6 ccm
— 0,8 „
= 23,8 ccm = 96 %

zur Hälfte nach Fürth:
20 K. bisulf. = 35,4 n/10-J.
— 14,8
20,6 · 4,5
= 0,093 g Milchsäure
= 94 %.

c) 50 ccm wie bei b gereinigt und bestimmt:

zur Hälfte als CO
= 14,5 ccm
— 1,0 „
= 13,5 ccm = 108 %

zur Hälfte nach Fürth
20 K. bisulf. = 36,4 n/10-J.
— 24,8
11,6 · 4,5
= 52,2 = 104 %.

D. Rinderbouillon:

25 ccm = 3,4 n/5-NaOH
= 0,061 g Milchsäure
= 15,3 ccm CO.

1. 50 ccm Bouillon bestimmt:

die Hälfte als CO
= 17,0 ccm
— 0,8 „
= 16,2 ccm = 106 %

die Hälfte nach Fürth
20 K. bisulf. = 38,6 n/10-J.
— 24,6
14,0 · 4,5
= 0,063 g Milchsäure
= 103 %.

2. 50 ccm Bouillon bestimmt:

die Hälfte als CO
= 15,3 ccm
− 1,2 „
= 14,1 ccm = 92 %

die Hälfte nach Fürth
20 K. bisulf. = 38,6 n/10-J.
− 26,2
12,4·4,5
= 0,056 = 92 %.

E. Pferdebouillon:

25 ccm = 4,0 n/5-NaOH
= 0,072 g Milchsäure
= 18,0 ccm CO.

1. 50 ccm bestimmt:

zur Hälfte als CO
= 18,6 ccm
− 0,6 „
= 18,0 ccm = 100 %

zur Hälfte nach Fürth
20 K. bisulf. = 36,3 n/10-J.
− 21,8
14,5·4,5
= 0,066 = 92 %
(abgerundet 0,07 = 97 %).

2. 38 ccm bestimmt:

zur Hälfte als CO
= 13,6 ccm
− 0,4 „
= 13,2 ccm = 95 %

zur Hälfte nach Fürth
20 K. bisulf. = 36,3 n/10-J.
− 24,1
= 12,2·4,5
= 0,055 = 100 %.

3. 50 ccm + 0,1 g Li lact. + genügend H_3PO_4 zum Freimachen der Milchsäure bestimmt.

Es verhält sich $\frac{\text{milchsaures Lithium}}{\text{Milchsäure}} = \frac{96}{90} = \frac{0,1}{0,094}$.

Es sind also hier zu erwarten:

für 50 ccm Bouillon = 36,0 ccm CO
+ 0,1 g Li lact. = 23,5 „ „
59,5 ccm CO
für die Hälfte = 29,8 ccm CO

oder:

für das Ganze = 0,238 g Milchsäure
für die Hälfte = 0,119 g „

Es wurden gefunden für die Hälfte

als CO
= 30,7 ccm
− 1,3 „
= 29,4 ccm = 99 %

nach Fürth
20 K. bisulf. = 34,9 n/10-J.
− 10,5
24,4·4,5
0,1098 = 0,11
statt 0,12 = 92 %.

F. Pferdebouillon:

50 ccm = 8,1 n/5-NaOH
= 0,146 g Milchsäure
= 36,4 ccm CO
25 ccm = 0,073 g Milchsäure
= 18,2 ccm CO.

1. 50 ccm Bouillon bestimmt:

zur Hälfte als CO
= 20,2 ccm
— 1,6 „
= 18,6 ccm = 102 %

zur Hälfte nach Fürth
20 K. bisulf. = 27,9 $^n/_{10}$-J.
— 12,2
15,7 · 4,5
= 0,071 = 97,2 %.

2. 100 ccm Bouillon bestimmt:

zur Hälfte als CO
= 39,0 ccm
— 1,8 „
= 37,2 ccm = 102 %

zur Hälfte nach Fürth
40 K. bisulf. = 55,8 $^n/_{10}$-J.
— 25,3
30,5 · 4,5
= 0,137 = 0,14
= 95 %.

3. 40 ccm Bouillon + 10 ccm einer Milchsäurelösung, von der
5 ccm = 3,7 $^n/_5$-NOH
= 0,066 g Milchsäure
= 16,5 ccm CO sind.

10 ccm derselben Milchsäurelösung mit Na_2CO_3 alkalisch gemacht und eingedampft und als CO bestimmt, ergaben:

a) 32,7 ccm CO
— 1,4 „ „
= 31,3 ccm CO

b) 32,7 ccm CO
— 0,7 „ „
= 32,0 ccm CO.

Es waren also hier zu erwarten:

40 ccm Bouillon	= 29,1 ccm CO	= 0,117 g Milchsäure	
+ 10 „ Milchsäurelösung	= 32,0 „ „	= 0,132 g „	
	= 61,1 ccm CO	= 0,249 g Milchsäure	
für die Hälfte	= 30,6 „ „	= 0,124 g „	

Es wurden gefunden bei der Hälfte,

die als CO bestimmt wurde:
= 28,6 ccm
— 0,4 „
= 28,2 ccm = 92 %

die nach Fürth bestimmt wurde:
20 K. bisulf. = 31,9 $^n/_{10}$-J.
— 6,4
25,5 · 4,5
= 0,115 = 93 %.

4. 60 ccm Bouillon + 40 ccm derselben Milchsäurelösung (wie F. 3).

Es sind zu erwarten:

60 ccm Bouillon	= 0,175 g Milchsäure	= 43,7 ccm CO
+ 40 ccm obiger Milchsäurelös.	= 0,528 g „	= 128,0 „ „
	= 0,703 g Milchsäure	= 171,7 ccm CO
für die Hälfte	= 0,3515 g „	= 85,85 „ „
für ein Viertel	= 0,1758 g „	= 42,92 „ „

Diese 60 ccm Bouillon + 40 ccm Milchsäurelösung wurden zuletzt in 3 Teile geteilt und in folgender Weise bestimmt:

1. ½ als CO
= 84,5 ccm
— 1,0 „
= 83,5 ccm
= **97,1 %**

2. ¼ als CO
= 42,0 ccm
— 0,8 „
= 41,2 ccm
= **96 %**

3. ¼ nach Fürth
40 K. bisulf. = 55,2 $^n/_{10}$-J.
— 18,1
37,1 · 4,5
= 0,16695
= 97,2 %.

Aus diesen Zahlen ergibt sich, daß man auf dem Wege der Überführung in Kohlenoxyd die Milchsäure in wässerigem Fleischextrakt mit hinreichender Genauigkeit bestimmen kann und auf diese Weise Werte bekommt, die mit denen recht gut übereinstimmen, welche nach der Acetaldehydmethode gewonnen sind. Meine Analyse stellt also ein ganz brauchbares Kontrollverfahren zu den bisher gebräuchlichen Milchsäurebestimmungen dar.

Über Pflanzenenzyme.

III. Pathologische Veränderungen der Kartoffelamylase[1]).

Von

G. Doby und J. Bodnár.

(Aus der Kgl. ungarischen landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation in Magyaróvár und aus dem chemischen Laboratorium der Kgl. ungarischen Versuchsstation für Pflanzenphysiologie und -pathologie in Budapest.)

(Eingegangen am 20. Oktober 1914.)

Die Versuche, in denen einer von uns[2]) die biochemischen Veränderungen blattrollkranker[3]) Kartoffelpflanzen untersuchte, dehnten wir auf die Amylase der Knollen aus. Die Möglichkeit hierzu bot die Kenntnis der wichtigeren Eigenschaften der

[1]) Vorgelegt der mathem.-naturwiss. Klasse d. Ung. Akademie d. Wissenschaften in der Sitzung vom 18. Juni 1914.

[2]) Doby, Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1. Mitteilung, **21**, 10, 1911; 2. Mitteilung ebenda 321; 3. Mitteilung ebenda **22**, 204, 1912; 4. Mitteilung ebenda 401.

[3]) Diese Krankheit erregte neuerdings besonders im Jahre 1906 Aufsehen, wonach sie zuerst von Appel (Jahresb. d. Vereinig. f. angew. Bot. **3**, 1906) einer gründlichen Untersuchung unterworfen wurde. Die äußeren Merkmale bestehen darin, daß die Blätter meistens ein eigentümliches Einrollen zeigen, öfter durch gelbliches oder violettes Verfärben begleitet. Der Ertrag an Knollen vermindert sich im ersten Jahre kaum, in späteren Jahren beträchtlich. Die Knollen treiben wenig oder gar nicht. Als Ursache wurde von Appel (l. c.) sowie neuerdings von Kornauth und Köck (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich 1912) und von Himmelbaur (Öst.-ung. Zeitschr. f. Zuckerrübenind. u. Landw. **41**, 1912) eine Infektion durch Fusariumpilze angesprochen; letzterem Autor gelangen neuerdings auch Impfinfektionen (Öst.-ung. Zeitschr. f. Zuckerind. u. Landw. **42**, 711, 1913). Gute Literaturübersicht in allen genannten Abhandlungen. — Es sei mir bei dieser Gelegenheit gestattet, die Zusammenfassung meiner älteren Versuchsresultate in der ersten Abhandlung des Herrn Himmelbaur richtigzustellen. Er sagt auf S. 9: „Doby (1911) konnte seinerseits

Amylase ruhender Knollen[1]). Von besonderem Nutzen war uns hiervon die Kenntnis des Optimums, sowie jene der Verstärkung der Amylasenwirkung beim antiseptischen Aufbewahren der Amylase.

Zu den Versuchen diente uns das sorgfältigst ausgesuchte Material, das von den Versuchsfeldern der kgl. ung. Versuchsstation für Pflanzenphysiologie und -pathologie aus dem Jahre 1912 stammte, und zwar waren es 11 parallele Muster kranker und gesunder Knollen und 9 Muster nur von kranken Knollen. Die Ergebnisse unserer Arbeit sind zweierlei, je nachdem sie sich auf die Kartoffelamylase im allgemeinen, oder auf den Zusammenhang mit der Krankheit beziehen.

Die eigentlichen Versuche wurden einzeln wieder in zweierlei Richtungen geleitet, indem einmal beobachtet wurde, in welchem Maße sich die Konzentration der Amylase in den Knollen selbst verändert, und dann, welches die Änderungen der Amylasenkonzentration beim antiseptischen Aufbewahren der amylasehaltigen Preßsäfte sind. Die Ergebnisse dieser Versuche, verglichen mit jenen der allgemeinen Eigenschaften der Kartoffelamylase[2]), führten uns zu dem Schluß, daß die Amylase in der Kartoffelknolle teilweise als Zymogen vorhanden ist, das fortwährend allmählich in den aktiven Zustand übergeht; dieselbe Umwandlung verläuft, jedoch viel rascher, beim antiseptischen Aufbewahren des Kartoffelsaftes.

Die Aufgabe weiterer Versuche wird es sein, die Ursachen der Umwandlung des Zymogens in Enzym zu bestimmen; die

---

nach einer Wiederholung und Vertiefung der Grüss-Sorauerschen Methoden gar kein „enzymatisches" Merkmal finden". Vor allem muß ich bemerken, daß ich, wie aus meiner ersten Arbeit klar ersichtlich, nicht mit der Grüßschen capillaranalytischen Methode arbeitete, da die sonst vortreffliche Methode für quantitatives Arbeiten nicht geeignet ist, sondern daß ich hierzu andere Methoden umarbeitete, bzw. neu ausarbeitete. Was nun die Ergebnisse anbelangt, betonte ich in dieser Abhandlung, daß es sich vorerst um vorläufige Versuche handle; und tatsächlich gelang es mir, in der zweiten und in den späteren Abhandlungen an sorgfältig geerntetem, zuverlässigem Versuchsmaterial ganz scharfe Unterschiede zu finden, was zwar auch eine spätere Bemerkung (S. 52) Herrn Himmelbaurs andeutete, was ich jedoch im Interesse der Sachlage hier zu betonen für nötig hielt. G. Doby.

[1]) Doby, diese Zeitschr. 67, 166, 1914.

[2]) Doby, diese Zeitschr. l. c.

Versuche Ford und Gutries[1]), sowie van Laers[2]) geben indes schon Fingerzeige hierzu. Diese Forscher behandelten Gerste bzw. Malz mit Papain und konnten dabei eine Verstärkung der Amylasewirkung verzeichnen. Es muß also angenommen werden, daß das Zymogen ruhender Kartoffelknollen auch durch proteolytische Enzyme allmählich in aktive Amylase übergeführt wird; diese Umwandlung geht im ausgepreßten, antiseptisch erhaltenen Kartoffelsafte noch viel rascher vonstatten, wodurch dann eine Verstärkung der Aktivität dieses Saftes zu beobachten ist.

Indessen muß bis etwa zur Mitte der Ruheperiode auch an Zymogen weniger als später vorhanden sein; die Anreicherung an Zymogen beginnt nämlich etwa in der ersten Hälfte des Januars, denn von da an ist eine beträchtlichere Verstärkung der Aktivität des Kartoffelsaftes zu verzeichnen.

Die Kartoffelamylase ist ziemlich empfindlich[3]). Daraus erklärt sich der Umstand, je stärker die ursprüngliche Aktivität des frischen Kartoffelsaftes ist, um so weniger verstärkt sich dieselbe beim antiseptischen Aufbewahren, bzw. um so rascher verschwindet die amylolytische Aktivität. Solange nämlich der Saft wenig Enzym und viel Zymogen enthält, langt letzteres nicht bloß zur Ergänzung der empfindlichen, rasch zugrunde gehenden Amylase, sondern es bildet sich aus dem Zymogen noch ein Überschuß an Amylase, was dann dadurch zum Ausdruck kommt, daß sich die Wirkung der Amylase steigert. Dagegen vermindert sich gegen das Frühjahr die Menge des Zymogens allmählich, da dessen größter Teil nun schon als fertige Amylase vorhanden ist. Daher ist nun auch die Aktivität des frischen Preßsaftes der Knollen höher, indessen steigert sie sich wenig oder gar nicht mehr und nimmt sogar rasch ab; da nämlich wenig oder gar kein Zymogen mehr vorhanden ist, kommt die Zersetzung der fertigen Amylase vollauf zum Ausdruck.

Die Versuche erklären auch die Beobachtungen Müller-Thurgaus[4]), wonach sich in Kartoffeln infolge von Abkühlung

---

[1]) Ford und Gutrie, Journ. Fed. Inst. Brew. 61, 1908.
[2]) van Laer, Bull. de l'Acad. roy. Belg. 417, 1913.
[3]) Doby, diese Zeitschr. l. c.
[4]) Müller-Thurgau, Landw. Jahrb. 11, 814, 1882.

um so leichter Zucker bildet, je weiter die Ruheperiode vorgeschritten ist.

Aus unseren Versuchen geht dann noch hervor, daß die Größe der Aktivität frischer Preßsäfte weder für die Sorte, noch für die Herkunft der Kartoffel bezeichnend ist, sondern jedenfalls von verwickelteren Umständen abhängt, deren Aufklärung jedoch noch späteren Untersuchungen vorbehalten bleibt. Zu diesen Faktoren wären außer der Bodenbeschaffenheit jedenfalls noch das Klima, die Abstammung der Pflanzen, die Düngung usw. zu zählen, dabei wird aber nach unseren Versuchen stets auch das Alter des Preßsaftes, sowie das Stadium der Ruheperiode beachtet werden müssen, um irrtümliche Schlüsse zu vermeiden.

Die Größe der Aktivität der Amylase ist fast unabhängig von der Größe der Knollen.

Schließlich konnten wir in betreff des Zusammenhanges der Amylasenkonzentration mit dem Gesundheitszustande der Knollen feststellen, daß der absolute Wert der Aktivität zwar nicht beeinflußt wird, indessen ist das Verhältnis von fertigem Enzym zu Zymogen je nach dem Gesundheitszustande verschieden. Im allgemeinen ist in gesunden Knollen mehr Zymogen vorhanden als in kranken.

Dieser Befund ist mit jener Tatsache, nach der in Knollen von kranken Pflanzen stets weniger Stärke vorhanden ist, als in jenen gesunder Pflanzen[1]), keineswegs im Widerspruch; im Gegenteil stehen die Befunde über die Verhältnisse der Amylase in vollem Einklange mit den früheren Folgerungen. Es ist nämlich, wie einer von uns schon früher ausführte[2]), mit vollem Recht anzunehmen, daß der geringere Gehalt an Stärke kranker Knollen durch die stärkere Oxydasenwirkung bedingt ist, die im Sinne der Palladinschen Pflanzenatmung[3]) mittelbar die Konzentration der Zucker herabsetzend, hierdurch eine stärkere Lösung der Stärke verursacht, etwa wie eine Saugvorrichtung an dem weit entlegenen anderen Ende des Saugrohres.

---

[1]) Doby, Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 3. Mitteilung, **22**, **204**, 1912.

[2]) Doby, Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. **22**, 401, 1912.

[3]) Palladin, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. **26a**, 125, 385, 1908; **27**, 101, 1909 usw.

Unsere biochemischen Kenntnisse über die Blattrollkrankheit der Kartoffel sind durch diese Versuche wieder vergrößert. Leider gelang es auch jetzt nicht, ein absolutes chemisches Merkmal der Krankheit ausfindig zu machen, dagegen wurde die Hypothese Sorauers[1]) von den enzymatischen Störungen durch neue Tatsachen gestützt. Es wurde hierdurch auch abermals ein Beweis dafür erbracht, daß mit den durch Appel, Kornauth, Köck und Himmelbaur festgestellten mykologischen Merkmalen chemische Veränderungen einhergehen. Zu prüfen bliebe natürlich, welches von den zweierlei Symptomen den Grund und welches die Folgeerscheinung darstellt.

Es sei hier noch kurz einer Meinung Massees[2]) gedacht, nach der in den hochgezüchteten Kartoffeln weniger Amylase sei, als in den nicht veredelten, was dann eine geringere Wiederstandsfähigkeit der jetzigen Kartoffelsorten zur Folge haben sollte. Nach unseren Befunden ist diese Auffassung kaum stichhaltig, da hieraus folgen müßte, daß die kranken Knollen eine geringere Amylasekonzentration aufweisen müßten, als die gesunden, was jedoch nicht der Fall ist. Allerdings war ein relativer Überschuß an Zymogen der Amylase festzustellen, was jedoch eben darauf hinweist, daß diese Verhältnisse viel verwickelterer und feinerer Natur sind, als daß sie anders wie durch eingehende Versuche aufzuklären wären.

Die weitere Forschung müßte sich mit der Frage beschäftigen, ob die chemischen und biochemischen krankhaften Veränderungen die Folge oder die Ursache der parasitischen Ansiedlungen seien, ferner inwiefern das Optimum und die Aktivierbarkeit der Amylase in gesunden und kranken Knollen verschieden sind.

Experimentelles.

Die Versuche wurden genau so ausgeführt, wie jene über die allgemeinen Eigenschaften der Kartoffelamylase[3]), d. h. mittels der Wohlgemuthschen Methode[4]) bei 40° und in

[1]) Sorauer, Internat. phytopathol. Dienst 1, 33, 1908.
[2]) Massee, ref. nach Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 22, 401, 1912.
[3]) Doby, diese Zeitschr. l. c.
[4]) Wohlgemuth, diese Zeitschr. 9, 1, 1908.

24 stündigen Versuchen. Da es sich schon nach wenigen Versuchen herausstellte, daß der Wert von L meistens zwischen 0,1 und 0,8 schwankte, wurden die Reihen ohne Vorversuche sogleich mit Intervallen von 0,1 ccm angesetzt. Bei vereinzelt vorhandener stärkerer Aktivität verdünnte man den Preßsaft nach Wohlgemuth auf das 10fache, wobei die Intervalle je nach Bedarf 0,01 oder 0,05 ccm ausmachten. Da es bei diesen Versuchen vor allem darauf ankam, daß die Aktivität der Preßsäfte durch keine Nebenwirkungen beeinflußt werde, war es höchst wichtig, die Preßsäfte stets gleichmäßig und auf die Weise zu bereiten, daß sie die durchschnittliche Aktivität der ganzen Probe aufweisen. Um sich über diese Verhältnisse Auskunft zu verschaffen, wurden einige Vorversuche angestellt. Vor allem stellte man den Kartoffelbrei mittels dreierlei Zerkleinerungsvorrichtungen her und gewann dann den Saft durch Auspressen mit der Hand so wie in voriger Mitteilung angegeben. Die Ergebnisse waren folgende:

	Kartoffelbrei gewonnen mittels		
	Rübenbohrers	Fleischhackmaschine	Walzenreibe
L	0,6 ccm	0,6 ccm	0,4 ccm
$D_{24h}^{40^\circ}$	1,4 „	1,4 „	2,0 „

Danach wurde die Zerkleinerung immer mit der Walzenreibe vorgenommen.

Die Größe der Knollen hatte kaum irgendwelchen Einfluß auf die Konzentration der Amylase, wie dies aus folgendem Versuch mit einem, nach Größe der Knollen in vier Teile geteilten Muster folgt:

Durchschnittliches Gewicht einer Knolle g	L ccm	$D_{24h}^{40^\circ}$
20	0,3	2,5
17	0,4	2,0
11	0,4	2,0
7	0,4	2,0

Immerhin wurde auf die richtige Entnahme der Durchschnittsproben die größte Sorgfalt verwendet.

Ansteigen der Konzentration der Amylase im Laufe der Ruheperiode der Knollen.

Gemäß unseres Arbeitsplanes hätte die Aktivität des frischen Preßsaftes, also der Zustand der Amylase in den Knollen, bis zum Aussetzen derselben öfter bestimmt werden sollen; leider war dies — mit Ausnahme des Musters 1 — nur zweimal möglich, da das öftere Untersuchen der schon fertigen Preßsäfte, sowie die große Zahl der Muster uns zu sehr in Anspruch nahmen. Die erstmaligen Bestimmungen fielen zwischen 10. II. und 1. III., die zweitmaligen Versuche zwischen 21. III. und 8. IV., es verstrichen also zwischen der ersten und zweiten Bestimmung je 37 bis 42 Tage. Zur Zeit der ersten Bestimmung waren die Knollen noch in völliger Ruhe, höchstens bei den zuletzt erhobenen war ein kaum merkliches Austreiben der Augen wahrnehmbar. Dagegen begannen dieselben bei der zweiten Aufnahme schon auszutreiben, die Länge der Triebe überschritt jedoch niemals $^1/_2$ cm. Diese Triebe wurden vor dem Zerkleinern der Knollen natürlich sorgfältigst entfernt. Die Hälfte jeder Knolle wurde zur Bestimmung der Trockensubstanz benützt; es wäre jedoch überflüssig, diese Bestimmungen hier anzuführen, da sich die Ergebnisse mit den früheren[1]) völlig decken, indem die gesunden Knollen stets mehr Trockensubstanz enthielten als die kranken.

Die Angaben über die frischen Preßsäfte finden sich in Tabelle I. Vor allem ist aus dieser Tabelle ersichtlich, daß die frische Aktivität meistens um so größer ist, je älter die Knolle. Denn trotzdem die Konzentration der Amylase innerhalb weiter Grenzen schwankt, sind die Werte $D^{40°}_{24h}$ bei den Versuchen der ersten Aufnahme dennoch im allgemeinen niedriger als jene der zweiten Aufnahme, bzw. vergrößern sich diese Werte allmählich gegen den unteren Teil der Tabelle, also mit dem Fortschreiten der Ruheperiode. Gegen das Ende derselben ist jedoch wieder ein mäßiger Abfall bemerkbar. Die Änderung der Amylasenkonzentration der Knollen (also die Aktivität

---

[1]) Spieckermann, Jahresber. d. Vereinig. ang. Bot. 8, 1 und 173, 1910. — Kornauth und Köck, Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österr. 14, Heft 5 und 7, 1911. — Doby, Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 22, 204, 1912.

der frischen Preßsäfte) ist am besten ersichtlich, wenn man die Werte $D_{24h}^{40^0}$ der zweiten Aufnahme in Prozenten der ersten Aufnahme ausdrückt, also

$$\frac{100\,D_{2.\,\text{Aufnahme}}}{D_{1.\,\text{Aufnahme}}},$$

wie dies aus folgender Zusammenstellung ersichtlich ist:

Nr. des Musters		1–2	3–4	7–8	9–10	11–12	13–14	15–16	17–18	19–20	21–22
Zahl der zwischen der 1. und 2. Aufnahme verstrichenen Tage		39	39	42	41	42	37	39	38	37	37
$\frac{100\,D_2}{D_1}$	gesund	165	198	125	335	268	250	50	172	83	83
	krank	150	120	236	335	15!	231	60	268	125	83

Nr. des Musters . . .	23	24	25	27	28	29
Zahl der zwischen der 1. und 2. Aufnahme verstrichenen Tage	38	37	40	38	39	39
$\frac{100\,D_2}{D_1}$	333	79	79	91	42	42

Es ist auffallend, daß die Mehrzahl der in der ersten Gruppe befindlichen Werte von $\frac{100\,D_2}{D_1}$ 100 übertrifft, die Konzentration der Amylase in der Knolle stieg also an, während alle Konzentrationen der zweiten Gruppe — mit einer Ausnahme — sanken. Der Grund dieser Erscheinung ist — wie wir später sehen werden — darin zu suchen, daß die Bestimmungen der zweiten Gruppe in einen späteren Zeitpunkt fielen, in dem das Zymogen der Amylase schon größtenteils verbraucht war; außerdem stammten alle Muster der zweiten Gruppe von kranken Pflanzen. Immerhin sind jedoch starke Schwankungen zu verzeichnen; so z. B. war das größte Anwachsen der Amylasenkonzentration das $3^1/_2$ fache der ersten Aufnahme (Muster 9 und 10), während in einem anderen Muster (Nr. 12, krank) zu gleicher Zeit ein Abfall auf $15^0/_0$ der erstlich festgestellten Aktivität stattfand.

Wäre es möglich gewesen, die Konzentration der Amylase in allen Mustern noch vor Anfang Februar zu bestimmen, so hätte man gewiß niedrigere Werte gefunden, wie dies aus der Untersuchung des 1. Musters folgt[1]):

[1]) Doby, diese Zeitschr. l. c.

Datum . .	20. XII.	4. I.	10. II.	21. III.
$D_{24h}^{40°}$	1,4	1,4	2,0	3,3
$\frac{100 D_2}{D_1}$	100	100	140	240

Als wir also bei oben angeführten Mustern erst Anfang Februar die Konzentration der Amylase erstmals bestimmten, hatten wir es zweifellos schon mit einer angewachsenen Aktivität zu tun.

Das Anwachsen der Aktivität der Preßsäfte im Laufe ihres sterilen Aufbewahrens.

Dieselben Preßsäfte, deren Aktivität man gleich nach dem Auspressen bestimmte, wurden nun mit $3^0/_0$ Toluol in luftdicht schließenden Flaschen bei 8 bis 10^0 an einem dunklen Orte aufbewahrt und von Zeit zu Zeit auf ihre Aktivität abermals untersucht. Die Ergebnisse befinden sich in den Tabellen II bis V. Hierzu ist zu bemerken, daß Tabelle V die Werte von $\frac{100 D_t}{D_0}$ enthält; also die jeweils gefundene Aktivität (D_t) ausgedrückt in Prozenten der in den frischen Preßsäften festgestellten Werte von $D_{24h}^{40°}$ (D_0).

Betrachten wir nunmehr das Ausmaß der Verstärkung der antiseptisch erhaltenen Preßsäfte, so finden wir den größten relativen Wert bei der kranken „Up to date“ aus Magyaróvár (Tabelle V, Nr. 2), wo sich die Aktivität in 26 Tagen auf das 1- bis 5 fache des ursprünglichen Wertes vergrößerte. Indessen wird das Maximum der Verstärkung in sehr verschiedenen Zeiten erreicht, und es ist aus Tabelle V klar ersichtlich, daß die Verstärkung um so größer ist, je jünger, d. h. je weiter die Knolle vom Austreiben entfernt ist. Im Einklang damit steht die Tatsache, daß nach dem 21. II. überhaupt keine Verstärkung mehr stattfand. Während z. B. vor dem 22. II. die Aktivität der Amylase gesunder Knollen öfter noch nach 70 Tagen ansteigt, behalten später, besonders nach dem 20. III., die Preßsäfte ihre Aktivität nur mehr höchstens 13 Tage hindurch, ohne überhaupt anzuwachsen.

Wäre es jedoch möglich gewesen, die Preßsäfte noch öfter

zu untersuchen, so hätte sich ein wenigstens geringes Ansteigen voraussichtlich stets feststellen lassen. Wie verschieden sich das Ansteigen der Aktivität bei den in verschiedenen Zeitpunkten der Ruheperiode hergestellten Preßsäften gestaltet, geht am besten aus den Werten des am eingehendsten untersuchten ersten Musters hervor[1]):

Tag des Anfertigens des Preßsaftes	Verhältniszahlen der Aktivität, ausgedrückt in Prozenten der ursprünglichen Aktivität, am								
	1.	2.–3.	6.	7.	8.–9.	12.	21.	29.	36.–69. Tage
14. XII.	—	—	100	—	143	143	100	—	—
4. I.	100	121	143	178	143	—	—	—	—
10. II.	100	—	—	—	—	—	—	125	125
21. III.	100	—	—	—	100	100	—	52	—

Es ist also ein Kulminationspunkt der Verstärkung zu verzeichnen.

Die Konzentration der Amylase im Zusammenhange mit dem Anbauorte und der Sorte.

Gesunde Knollen hatten wir leider nur von einem Orte und können daher zur Untersuchung obigen Satzes bloß kranke Muster herangezogen werden.

Die Ergebnisse folgen:

Des Musters			$D^{40°}_{24h}$ im frischen Preßsafte			
			bei der 1. Aufnahme		bei der 2. Aufnahme	
Nummer	Sorte	Anbauort	10.–13. II.	26. II.–1. III.	21.–27. III.	4.–8. IV.
2	Up to date	Magyaróvár	1,67	—	2,5	—
24		Párisháza	—	3,3	—	2,5
29		Poroszka	—	$>$ 11,0	—	8,3
31		Gidrafa	—	$>$ 11,0	—	—
4	Wohltmann	Magyaróvár	1,67	—	2,0	—
26		Párisháza	—	$>$ 11,0	—	—
23		Poroszka	—	3,3	—	11,0
25		Gidrafa	—	3,3	—	2,5
6	Magnum bonum	Magyaróvár	2,50	—	—	—
8		„	1,40	—	3,3	—
28		Párisháza	—	$>$ 11,0	—	8,3
30		Poroszka	—	$>$ 11,0	—	—
27		Gidrafa	—	$>$ 11,0	—	10,0

Es ist also kein Zusammenhang zwischen der Konzentration der Amylase und der Sorte oder der Herkunft zu ver-

[1]) Die Werte der oberen zwei Reihen sind der schon angeführten Arbeit Dobys entnommen.

zeichnen. Besonders klar tritt dies bei „Magnum bonum“ zutage, deren zweierlei Muster verschiedener Abstammung in Magyaróvár geerntet wurden und dennoch ganz verschiedene Werte aufwiesen. Hier müssen andere Faktoren mitspielen.

Die absoluten Werte der Amylasenkonzentration ($D^{40°}_{24h}$) sind viel kleiner als die meisten bisher untersuchten Amylasen tierischer Herkunft. Mit pflanzlichen Amylasen lassen sie sich kaum vergleichen, da hierüber Angaben nach Wohlgemuths Methode nicht vorhanden sind. Klempins[1]) Untersuchungen können hierzu nicht in Betracht kommen, da derselbe die Amylase aus den Haferkörnern mittels Glycerin auszog, was natürlich infolge des geringen Wassergehaltes der Körner nicht anders möglich war.

Tabelle I.

Sorte	Anbauort	Nr. des Musters	Tag der ersten Aufnahme	Tag der zweiten Aufnahme	L am Tage der ersten Aufnahme	L am Tage der zweiten Aufnahme	$D^{40°}_{24h}$ am Tage der ersten Aufnahme	$D^{40°}_{24h}$ am Tage der zweiten Aufnahme
Up to date .	Magyaróvár	1	10. II.	21. III.	0,4	0,2	2,0	3,3
		2[2])	„	„	0,5	0,3	1,67	2,5
Wohltmann .		3	11. II.	22. III.	0,5	0,25	1,67	3,3
		4[2])	„	„	0,5	0,45	1,67	2,0
Magnum bon.		7	13. II.	27. III.	0,4	0,3	2,0	2,5
		8[2])	„	„	0,6	0,2	1,4	3,3
Fürst Bismarck		9	14. II.	„	0,4	0,1	2,0	6,7
		10[2])	„	„	0,4	0,1	2,0	6,7
Unica . . .		11	15. II.	29. III.	0,3	0,1	2,5	6,7
		12[2])	„	31. III.	0,05	0,3	16,7	2,5
Silesia . . .		13	20. II.	29. III.	0,2	0,05	4,0	10,0
		14[2])	„	„	0,3	0,1	2,9	6,7
Max Eyth . .		15	21. II.	1. IV.	0,15	0,3	5,0	2,5
		16[2])	„	„	0,15	0,25	5,0	3,3
Paul Krüger .		17	22. II.	31. III.	0,3	0,15	2,9	5,0
		18[2])	„	„	0,35	0,1	2,5	6,7
Bussola . . .		19	24. II.	2. IV.	0,2	0,2	4,0	3,3
		20[2])	„	„	0,2	0,15	4,0	5,0
Bonar . . .		21	25. II.	3. IV.	0,2	0,25	4,0	3,3
		22[2])	„	„	0,2	0,2	4,0	3,3
Wohltmann .	Poroszka	23[2])	26. II.	5. IV.	0,2	0,08	3,3	11,0
Up to date .	Párisháza	24[2])	„	4. IV.	0,2	0,35	3,3	2,5
Wohltmann .	Gidrafa	25[2])	„	7. IV.	0,2	0,35	3,3	2,5
Magnum bon.	„	27[2])	27. II.	„	<0,1	0,09	>11,0	10,0
„ „	Párisháza	28[2])	28. II.	8. IV.	<0,1	0,11	>11,0	8,3
Up to date .	Poroszka	29[2])	„	„	<0,1	0,11	>11,0	8,3

[1]) Klempin, diese Zeitschr. 10, 210, 1908.

[2]) Knollen kranker Pflanzen.

Tabelle II.

Preßsäfte der ersten Aufnahme.

Sorte	Anbauort	Nr. des Musters	Tag der ersten	zweiten	dritten	vierten	fünften	sechsten	L bei der ersten	zweiten	dritten	vierten	fünften	sechsten
			Untersuchung des Preßsaftes						Untersuchung des Preßsaftes					
Up to date . .	Magyaróvár	1	10. II.	—	8. III.	11. III.	19. III.	21. IV.	0,4	—	0,3	0,3	0,3	0,3
		2[1]	„	—	„	„	„	„	0,5	—	0,3	0,3	0,4	0,6
Wohltmann . .		3	11. II.	—	„	„	20. III.	22. IV.	0,5	—	0,5	0,5	0,7?	0,4
		4[1]	„	—	„	„	„	„	0,5	—	0,7	0,65	0,7	0,9
Magnum bonum		5	12. II.	—	10. III.	—	—	„	0,6	—	0,5	—	—	0,4
		6[1]	„	—	„	—	—	„	0,3	—	0,5	—	—	0,5
		7	13. II.	—	„	12. III.	—	„	0,4	—	0,3	0,3	—	0,3
		8[1]	„	—	„	„	—	„	0,6	—	0,5	0,55	—	0,7
Fürst Bismarck		9	14. II.	26. II.	—	„	—	24. IV.	0,4	0,3	—	0,3	—	0,4
		10[1]	„	25. II.	—	„	—	„	0,4	0,35	—	0,4	—	0,6
Unica		11	15. II.	27. II.	—	13. III.	—	5. V.	0,3	0,3	—	0,3	—	0,6
		12[1]	„	„	—	14. III.	—	„	0,05	0,04	—	0,06	—	0,2
Silesia		13	20. II.	28. II.	—	17. III.	—	„	0,2	0,15	—	0,15	—	0,2
		14[1]	„	„	—	„	—	„	0,3	0,35	—	0,3	—	0,8
Max Eyth . .		15	21. II.	1. III.	—	„	—	„	0,15	0,1	—	0,15	—	0,2
		16[1]	„	„	—	„	—	„	0,15	0,15	—	0,25	—	0,4
Paul Krüger .		17	22. II.	3. III.	—	18. III.	—	7. V.	0,3	0,3	—	0,3	—	0,3
		18[1]	„	„	—	„	—	„	0,35	0,55	—	0,6	—	0,8
Bussola . . .		19	24. II.	4. III.	—	23. III.	—	—	0,2	0,2	—	0,2	—	—
		20[1]	„	„	—	„	—	—	0,2	0,2	—	0,3	—	—
Bonar		21	25. II.	„	—	24. III.	—	—	0,2	0,3	—	0,3	—	—
		22[1]	„	„	—	„	26. III.	27. III.	0,2	0,25	—	0,55	1,0	1,5
Wohltmann . .	Poroszka	23[1]	26. II.	5. III.	8. III.	„	—	28. III.	0,2	0,3	0,3	>0,5	—	4,0
Up to date . .	Párisháza	24[1]	„	„	„	„	26. III.	„	0,2	0,3	0,3	>0,5	1,0	1,4
Wohltmann . .	Gidrafa	25[1]	„	„	„	—	„	„	0,2	0,4	0,4	—	>1,0	>3,0
„ . .	Párisháza	26[1]	27. II.	6. III.	—	—	—	„	<0,1	0,07	—	—	—	0,1
Magnum bonum	Gidrafa	27[1]	„	„	8. III.	—	—	„	<0,1	0,12	0,13	—	—	1,15
„ „	Párisháza	28[1]	28. II.	„	—	—	—	„	<0,1	0,04	—	—	—	0,09
Up to date . .	Poroszka	28[1]	„	7. III.	—	—	—	27. III.	<0,1	0,07	—	—	—	0,1
Magnum bonum	„	30[1]	1. III.	„	8. III.	—	—	„	<0,1	0,1	0,13	—	—	0,2
Up to date . .	Gidrafa	31[1]	„	„	—	—	—	28. III.	<0,1	0,08	—	—	—	0,1

[1]) **Knollen von kranken Pflanzen.**

Tabelle III.

Preßsäfte der zweiten Aufnahme.

Nr. des Musters	Tag der ersten Untersuchung des Preßsaftes	Tag der zweiten Untersuchung des Preßsaftes	Tag der dritten Untersuchung des Preßsaftes	Tag der vierten Untersuchung des Preßsaftes	L bei der ersten Untersuchung des Preßsaftes	L bei der zweiten Untersuchung des Preßsaftes	L bei der dritten Untersuchung des Preßsaftes	L bei der vierten Untersuchung des Preßsaftes
1	21. III.	29. III.	2. IV.	18. IV.	0,2	0,2	0,2	0,5
2[1])	"	"	"	19. IV.	0,3	0,3	0,4	0,7
3	22. III.	"	"	18. IV.	0,25	0,2	0,4	0,9
4[1])	"	"	"	"	0,45	0,4	0,5	0,8
7	27. III.	—	9. IV.	21. IV.	0,3	—	0,3	beil. 1,0
8[1])	"	—	"	"	0,2	—	0,5	< 0,5
9	"	—	"	"	0,1	—	0,1	beil. 1,0
10[1])	"	—	"	"	0,1	—	0,2	< 0,5
11	29. III.	—	"	26. IV.	0,1	—	0,1	0,8
12[1])	31. III.	—	"	"	0,3	—	0,45	0,7
13	29. III.	—	"	"	0,05	—	0,2	0,5
14[1])	29. III.	—	"	"	0,1	—	0,3	> 0,7
15	1. IV.	—	11. IV.	29. IV.	0,3	—	0,5	> 0,7
16[1])	"	—	"	"	0,25	—	0,6	> 0,8
17	31. III.	—	"	"	0,15	—	0,15	0,5
18[1])	"	—	"	"	0,1	—	0,3	> 0,7
19	2. IV.	—	15. IV.	—	0,2	—	0,3	—
20[1])	"	—	"	—	0,15	—	0,4	—
21	3. IV.	—	"	—	0,25	—	0,15	—
22[1])	"	—	"	—	0,20	—	0,30	—
23[1])	5. IV.	—	18. IV.	—	0,08	—	0,1	—
24[1])	4. IV.	—	"	—	0,35	—	0,6	—
25[1])	7. IV.	—	19. IV.	—	0,35	—	0,6	—
27[1])	"	—	"	—	0,09	—	0,4	—
28[1])	8. IV.	—	"	—	0,11	—	2,5	—
29[1])	"	—	"	—	0,11	—	2,0	—

Abhängigkeit der Amylase von dem Gesundheitszustande der Knollen.

Diese Abhängigkeit ist aus den Tabellen II bis V ersichtlich. Die Größe der Konzentration in gesunden und kranken Knollen (frische Preßsäfte!) ist nicht bezeichnend; dagegen stieg die Aktivität gesunder Knollen in den Preßsäften der ersten Aufnahme meistens an, während dies bei kranken Knollen bloß in 3 Fällen (Nr. 2, 8 und 12) zu beobachten war, und auch hier dauerte dies Ansteigen höchstens 37 Tage, wogegen die Aktivität gesunder Preßsäfte ehestens am 68. Tage zu sinken begann.

In den Preßsäften der zweiten Aufnahme war auch bei gesunden Knollen kein Ansteigen der Aktivität mehr zu ver-

[1]) Knollen von kranken Pflanzen.

zeichnen, aber die Amylase war noch immer viel haltbarer, als bei kranken Knollen, denn die Aktivität letzterer sank meistens schon am 8. bis 9. Tage, während jene gesunder Knollen meistens noch 10 bis 13 Tage denselben Wert behielt. Besonders auffallend ist dies bei Nr. 12, sowie bei 26 bis 31, deren frische Aktivität, insbesondere bei der ersten Aufnahme, ungewöhnlich hoch war, und bei der zweiten Aufnahme dennoch rapid abfiel. Nr. 28 und 29 zeigte z. B. bei der zweiten Aufnahme in 11 Tagen einen Abfall auf 4 bis 5 % der ursprünglichen Aktivität.

Tabelle IV.

Nummer des Musters	Preßsäfte der 1. Aufnahme								Preßsäfte der 2. Aufnahme		
	$D^{40^\circ}_{24h}$ am								$D^{40^\circ}_{24h}$ am		
	1.	6.–7.	8.–10.	12.	24.–26.	27.–29.	30.–37.	68.–79.	1.	10.–13.	25.–29.
	Tage der Aufbewahrung des Preßsaftes								Tage der Aufbewahrung des Preßsaftes		
1	2,0	—	—	—	2,5	2,5	2,5	2,5	3,3	3,3	1,67
2 [1])	1,67	—	—	—	2,5	2,5	2,0	1,4	2,5	2,0	1,25
3	1,67	—	—	—	1,67	1,67	—	2,0	3,3	2,0	1,0
4 [1])	1,67	—	—	—	1,25	1,4	1,25	—	2,0	1,67	1,1
5	1,4	—	—	—	1,67	—	—	2,0	—	—	—
6 [1])	2,5	—	—	—	1,67	—	—	1,67	—	—	—
7	2,0	—	—	—	2,5	2,5	—	2,5	2,5	2,5	beil. 1,0
8 [1])	1,4	—	—	—	1,67	1,6	—	1,25	3,3	1,67	> 1,67
9	2,0	—	—	2,5	2,5	—	—	2,0	6,7	6,7	beil. 1,0
10 [1])	2,0	—	—	2,0	2,0	—	—	1,4	6,7	3,3	> 1,67
11	2,5	—	—	2,5	2,5	—	—	1,4	6,7	6,7	1,1
12 [1])	16,7	—	—	20,0	14,3	—	—	4,0	2,5	2,0	1,25
13	4,0	—	5,0	—	5,0	—	—	4,0	10,0	3,3	1,67
14 [1])	2,9	—	2,5	—	2,9	—	—	1,1	6,7	2,5	< 1,25
15	5,0	—	5,0	—	5,0	—	—	4,0	2,5	1,67	< 1,25
16 [1])	5,0	—	5,0	—	3,3	—	—	2,0	3,3	1,43	< 1,1
17	2,9	—	2,9	—	2,9	—	—	2,9	5,0	5,0	1,67
18 [1])	2,5	—	1,67	—	1,4	—	—	1,2	6,7	2,5	< 1,25
19	4,0	—	4,0	—	—	4,0	—	—	3,3	2,5	—
20 [1])	4,0	—	4,0	—	—	2,9	—	—	5,0	2,0	—
21	4,0	2,9	—	—	—	2,9	—	—	3,3	5,0	—
22 [1])	4,0	3,3	—	—	—	1,67–0,9	0,6	—	3,3	2,5	—
23 [1])	3,3	2,5	2,5	—	< 1,67	—	0,25	—	11,0	5,0	—
24 [1])	3,3	2,5	2,5	—	< 1,67	0,9	0,67	—	2,5	1,4	—
25 [1])	3,3	2,0	2,0	—	—	< 0,9	< 0,3	—	2,5	1,4	—
26 [1])	> 11,0	12,5	—	—	—	6,7	—	—	—	—	—
27 [1])	> 11,0	7,7	7,1	—	—	6,3	—	—	10,0	2,0	—
28 [1])	> 11,0	20,0	—	—	—	10,0	—	—	8,3	0,3	—
29 [1])	> 11,0	12,5	—	—	—	9,0	—	—	8,3	0,4	—
30 [1])	> 11,0	9,0	7,1	—	3,3	—	—	—	—	—	—
31 [1])	> 11,0	11,0	—	—	—	9,0	—	—	—	—	—

[1]) Knollen kranker Pflanzen.

Tabelle V.

Nummer des Musters	Preßsäfte der 1. Aufnahme $\frac{100\,D_t}{D_0}$ am … Tage der Aufbewahrung des Preßsaftes								Preßsäfte der 2. Aufnahme $\frac{100\,D_t}{D_0}$ am … Tage der Aufbewahrung des Preßsaftes		
	1.	6.–7.	8.–10.	12.	24.–26.	27.–29.	30.–37.	68.–79.	1.	10.–13.	25.–29.
1	100	—	—	—	125	125	125	125	100	100	51
2	100	—	—	—	150	150	120	84	100	80	50
3	100	—	—	—	100	100	—	120	100	61	30
4	100	—	—	—	75	84	75	—	100	84	55
5	100	—	—	—	119	—	—	143	—	—	—
6	100	—	—	—	67	—	—	67	—	—	—
7	100	—	—	—	125	125	—	125	100	100	beil. 40
8	100	—	—	—	119	114	—	89	100	51	>51
9	100	—	—	125	125	—	—	100	100	100	beil. 15
10	100	—	—	100	100	—	—	70	100	49	>25
11	100	—	—	100	100	—	—	56	100	100	16
12	100	—	—	120	86	—	—	24	100	80	50
13	100	—	125	—	125	—	—	100	100	33	17
14	100	—	—	—	100	—	—	38	100	37	19
15	100	—	100	—	100	—	—	80	100	67	50
16	100	—	100	—	67	—	—	40	100	43	33
17	100	—	100	—	100	—	—	100	100	100	33
18	100	—	67	—	56	—	—	48	100	37	19
19	100	—	100	—	—	100	—	—	100	76	—
20	100	—	100	—	—	72	—	—	100	40	—
21	100	72	—	—	—	72	—	—	100	152	—
22	100	82	—	—	—	42	—	—	100	76	—
23	100	76	76	—	<51	—	—	—	100	45	—
24	100	76	76	—	<51	27	20	—	100	56	—
25	100	60	60	—	—	<27	<9	—	100	56	—
26	?	100	—	—	—	54	—	—	—	—	—
27	?	70	64	—	—	57	—	—	100	20	—
28	?	100	—	—	—	50	—	—	100	4	—
29	?	100	—	—	—	72	—	—	100	5	—
30	?	100	80	—	37	—	—	—	—	—	—
31	?	100	—	—	—	82	—	—	—	—	—

Die Neutralitätsregulation des graviden Organismus.

Von

K. A. Hasselbalch und S. A. Gammeltoft.

(Laboratorium des Finsen-Instituts, Geburtshilfliche Abteilung der Universitätsklinik und Kgl. Hebammenschule, Kopenhagen. Vorstände: K. A. Hasselbalch, Prof. L. Meyer, Direktor Dr. E. Hauch.)

(Eingegangen am 29. Oktober 1914.)

Mit 2 Figuren im Text.

Während der letzten Jahre ist die Vorstellung entstanden und vielfach erhärtet worden, daß die Blutreaktion, die Wasserstoffionenkonzentration des Blutes eine physiologische Konstante ist.

Den historischen Entwicklungsgang dieser Vorstellung, die teils in der Form einer Arbeitshypothese, teils als direktes Untersuchungsobjekt sich in physiologischen sowie in klinischen Kreisen immer fester eingebürgert hat, wollen wir hier nicht betrachten. Mit dem Nachweis[1]), daß unter experimentell geschaffenen Bedingungen, wo die Spannung der Blutkohlensäure abnorm und das Ionengleichgewicht im Harn aus seinen normalen Rahmen ebenfalls weit verschoben ist, die Wasserstoffionenkonzentration (die $C_{H^{\cdot}}$) des Blutes genau normal geblieben ist, ist eine feste Grundlage für die weitere Bearbeitung dieses fundamental wichtigen Arbeitsgebietes geschaffen worden.

Ein solcher Befund läßt sich nämlich kaum anders deuten, als daß die H-Ionenkonstanz für den Organismus von so durchgreifender Bedeutung ist, daß in Fällen, wo die Einstellung des Blutes auf diese Größe auf irgendeine Weise gestört wird, sofort Verschiebungen des Gleichgewichtes der weniger wichtigen Ionen eintreten, die womöglich die ursprüngliche $C_{H^{\cdot}}$ des Blutes zurückführen.

---

[1]) Siehe: Hasselbalch, diese Zeitschr. 46, 1912.

Als Einrichtungen dieser Art werden allgemein die vier folgenden angesehen:

I. Die Blutbeschaffenheit selbst ist eine solche, daß die Hinzusetzung sehr großer Säuren- und Basenmengen nur eine verhältnismäßig winzige Reaktionsänderung bewirken kann. Diese Eigenschaft des Blutes, die übrigens fast allen Organflüssigkeiten eigen ist, beruht [L. Henderson[1])] hauptsächlich auf der Gegenwart großer Mengen von Kohlensäure und Bicarbonaten, weniger auf den Phosphaten und Eiweißstoffen im Blute. Kurz: das Blut ist eine Flüssigkeit, die sehr reich an „Puffern" [Sörensen] ist, die durch Nebenreaktionen jeder schroffen Änderung der C_H entgegentreten.

Absolut stabil ist jedoch natürlich kein noch so pufferreiches System. Und so treten die biologischen Regulationsmechanismen hinzu:

II. Aus der Klinik der experimentellen und pathologischen Säurevergiftung ist schon seit langem die vermehrte Ammoniakbildung aus den Proteinstoffen der Nahrung bekannt und als kompensatorische Vorrichtung gegen die Ansäuerung des Blutes (nicht gegen die eventuellen spezifischen Giftwirkungen der betreffenden Säuren) erkannt worden. Gewöhnlich wird nicht die Bildung, sondern lediglich die Ausscheidung des Ammoniaks durch die Nieren verfolgt. In wohl charakterisierten, mit Acidose einhergehenden Krankheitsgruppen, wie z. B. Diabetes mellitus, ist man ja gewohnt, die NH_3-Ausscheidung als Maß für die Bildung der abnormen, sauren Stoffwechselprodukte zu verwenden.

III. Seitdem wir wissen, daß nicht allein eine übermäßige Kohlensäurespannung des Blutes, sondern die übermäßige Anhäufung im Blute von H-Ionen jeglichen Ursprungs die Atmung anregt, sehen wir ein, warum bei kompensierten acidotischen Zuständen die Atmung vermehrt, die CO_2-Spannung des Blutes dadurch erniedrigt sein muß. Die verstärkte Atmung, womit sofort das für H-Ionenüberschuß sehr empfindliche Atmungszentrum auf jede Säuerung des Blutes reagiert, treibt durch die stärkere Auslüftung des Blutes dessen CO_2-Spannung herunter und führt dadurch die C_H desselben der Norm entgegen.

[1]) Ergebn. d. Physiol. 8, 1909.

Bekanntlich geschieht dies mit solcher Präzision, daß unter bestimmten Umständen die Größe der Blutkohlensäurespannung (d. h. die alveolare CO_2-Spannung) als Spiegelbild des Grades einer bestehenden Acidose benutzt werden kann.

IV. Inwieweit die Nieren als Regulatoren der C_{H}· des Blutes direkt wirksam sind, muß vorläufig dahingestellt bleiben. Seit langem wissen wir, daß anorganische Säuren und Basen in der Nahrung den Harn mehr sauer oder mehr alkalisch reagieren lassen. Es ist ebenfalls bekannt, daß eine Fleisch-Fettdiät sowie die Inanition einen stark sauren Harn bewirken, während eine vegetarische Diät einen mehr alkalischen Harn verursacht. Bedeuten aber solche Befunde anderes und mehr, als daß saure bzw. alkalische anorganische Salze durch die Nieren ausgeschieden werden, z. B. sobald der osmotische Totaldruck im Blute eine gewisse Höhe erreicht? Wir wissen es nicht. Daß in den Nierenepithelien eine förmliche Auswahl der sauer bzw. alkalisch reagierenden Salze des Plasmas stattfinden sollte, wie das Haldane[1]) aus Hasselbalchs Untersuchungen zu folgern geneigt ist, ist bis jetzt eine unbewiesene Vermutung. Wir wollen unten im Lichte unserer eigenen Versuchsergebnisse diese Möglichkeit näher betrachten.

Die vorliegende Arbeit bezweckt, für eine größere Anzahl Personen in acidotischem bzw. normalem Zustand solche Funktionen, die — dem Obenstehenden zufolge — im Dienste der Neutralitätsregulation stehen könnten, gleichzeitig zu untersuchen.

Die Versuchsbedingungen — die demnach dieselbe Person in acidotischem und normalem Zustande erfordern — sind glücklicherweise von der Natur selbst geschaffen. Die Schwangerschaft ist seit einigen Jahren mit gewissem Recht als acidotischer Zustand aufgefaßt worden, insofern niedrige alveolare CO_2-Spannung, Neigung zur Acetonurie, vermehrte NH_3-Bildung regelmäßige Befunde sind. Der eigentliche Beweis für die Richtigkeit dieser Betrachtung der Schwangerschaft liegt zwar in dieser Arbeit selbst, indem wir (s. u.) die fixierte Acidität des Blutes (C_{H}· bei gegebener CO_2-Spannung) während der Gravidität erhöht finden.

[1]) Campbell, Douglas, Haldane, Hobson, Journ. of Physiol. 46, 1913.

Wir sind in folgender Weise vorgegangen: Vor und nach der Geburt sind dieselben Frauen in den untenstehenden Beziehungen untersucht worden:

1. Harn: Total-N, Ammoniak-N, $C_{H'}$ des Harns. Als Nebenbefunde wurden zugleich festgestellt: Diurese, formoltitrierbarer N.

2. Atmung: Alveolare CO_2-Spannung, als Nebenbefunde in einigen Fällen: Größe des resp. Stoffwechsels, resp. Quotient.

3. Blut: $C_{H'}$ bei gegebener und bei alveolarer CO_2-Spannung (fixierte Acidität und aktuelle Acidität des Blutes). Nebenbefund: Hämoglobingehalt.

Außerdem wurden parallele Untersuchungen an einem gesunden Manne unter verschiedener Diät durchgeführt sowie der Harn einer gesunden, nicht graviden Frau täglich über zwei Menstruationen hinaus untersucht, und die alveolare CO_2-Spannung einer Frau während ungefähr eines Jahres vor, während und nach einer normalen Schwangerschaft bestimmt. Endlich kommen hinzu vereinzelte Bestimmungen an Blut und Harn einiger pathologischen Fälle, hauptsächlich von Eklampsie.

Die Fragen, die uns das so gesammelte Versuchsmaterial klären sollten, sind folgende: Ist die normale Schwangerschaft von einem acidotischen Zustand begleitet? Wenn ja, wird es uns möglich sein, die Art dieser Acidose anzugeben?

Welche Einrichtungen werden vorgefunden, die geeignet sind, die $C_{H'}$ des Blutes gegen die Norm zurückzuführen?

Ist die gefundene Kompensation eine vollständige?

Für die Resultate der Harnuntersuchungen mit Ausnahme der $C_{H'}$-Bestimmungen ist Gammeltoft, für die übrigen Hasselbalch verantwortlich.

I. Harn.

Wenn man zu zeigen sucht, daß die Wasserstoffionenkonzentration des Blutes während der verschiedenen im Organismus stattfindenden Prozesse konstant ist, wird man naturgemäß darauf hingeleitet, die Wege zu untersuchen, auf denen der Organismus diesen Zustand hervorzurufen sucht. Einen der Wege, auf denen dies stattfindet, bezeichnet sicherlich der Harn. Veränderungen in der Reaktion des Harns, sei es, daß

diese in saurer oder alkalischer Richtung gehen, werden es mit sich bringen, daß der Organismus einen Verlust entweder an sauren oder basischen Verbindungen erleidet. Im allgemeinen ist es eine schon lange bekannte Tatsache, daß man durch Eingabe von Säuren oder Alkalien imstande ist, die Reaktion des Harns zu ändern.

Die Frage vom Harn als Teilnehmer an dieser regulierenden Wirksamkeit hängt indessen genau mit der Frage und der Bedeutung der im Harn enthaltenen Ammoniakmenge und gleichzeitig mit der Auffassung des Ammoniaks als säuresättigendes Element im Organismus zusammen.

Diese Frage wurde bereits früher von verschiedenen Seiten [Walther[1]), Camerer[2]), Schittenhelm[3]), Loeb[4]), Gammeltoft[5])] recht eingehend behandelt, und man kann es von diesen Untersuchungen aus als festgestellt betrachten, daß die Ammoniakbildung im Organismus einen der Wege bezeichnet, auf denen der Organismus seine Acidität zu regulieren sucht.

Eine Untersuchung, die auf die regulierenden Kräfte abzielt, über die der Organismus verfügt, um den $p_{H^\cdot}$ des Blutes konstant zu erhalten, muß sich daher notwendigerweise mit dem Ammoniak im Harn beschäftigen. Es kann aber nicht als genügend betrachtet werden, diesen Wert allein zu bestimmen; als ergänzender Faktor von vielleicht überaus großer Bedeutung sind sämtliche Bestimmungen des $p_{H^\cdot}$ des Harns zu betrachten; mittels dieser Bestimmungen wird es uns nämlich möglich sein, festzustellen, ob der Organismus durch andere Verbindungen als Ammoniak im Harn reguliert; ist dies nämlich nicht der Fall, so müssen die gefundenen Werte von $p_{H^\cdot}$ und Ammoniak an parallelen Kurven liegen.

In den von uns in dieser Beziehung angestellten Versuchen wurden außer der Größe der Diurese folgende Bestimmungen im Harn vorgenommen:

Total-N — Ammonik-N — $p_{H^\cdot}$.

Schließlich wurde der Gehalt des Harns an formoltitrierbarem Stickstoff (Amino-N) bestimmt. Einer der Gründe, auch

[1]) Walther, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 7, 1877.
[2]) Camerer, Zeitschr. f. Biol. 43, 1902.
[3]) Schittenhelm, Arch. f. klin. Med. 77, 1903.
[4]) Loeb, Zeitschr. f. Biol. 55, 1910.
[5]) Gammeltoft, Zeitschr. f. physiol. Chem. 75, 1911.

diese Verbindungen zu bestimmen, war, daß nach früheren Untersuchungen der formoltitrierbare Stickstoff während der Schwangerschaft im Harn vermehrt zu sein schien, und a priori ließ der Gedanke sich nicht abweisen, daß auch dies in diesem Zusammenhang Bedeutung haben könnte.

Was die Wahl des eben hier angewendeten Versuchsmaterials betrifft, verweisen wir auf die schon in der Einleitung gegebene Motivierung, und was alle näheren Details betrifft, auf die Versuchsprotokolle; es dürfte hier genügen, folgendes mitzuteilen: Das Material umfaßt im ganzen 15 schwangere Weiber; davon können jedoch nur 11 in diesem Zusammenhang behandelt werden, indem Umstände, die wir nicht im voraus beherrschten, wie Fieber im Wochenbett, Cystitis usw., bewirkten, daß einige Versuche ausgeschaltet werden mußten. Zum Kontrollversuch diente ein gesunder Mann und ein gesundes junges, nicht gravides Weib. Letzteres wurde kontinuierlich zwei Menstruationsperioden hindurch beobachtet; es finden sich keine den, in einem anderen Abschnitte dieser Arbeit veröffentlichten Untersuchungen, über Blut von Eklampsiepatienten entsprechenden Harnuntersuchungen.

In betreff der angewandten analytischen Methode dürfte folgendes genügen: Der Harn wurde jede 24 Stunden gesammelt, und es wurde ein wenig Toluol hinzugesetzt, um das Bakterienwachstum zu verhindern. Er wurde an einem kühlen Orte aufbewahrt, bis er zur Analyse angewendet werden sollte. In den Fällen, wo durch Defäkation oder anderswie Harn verloren ging, ist dies in den Tabellen bemerkt.

Die Gesamtstickstoffmenge wurde nach Kjeldahls Methode bestimmt, indem stets Doppelanalysen stattfanden.

Das Ammoniak wurde durch Abdestillation im Vakuum bei 42° nach der Krüger-Reich-Schittenhelmschen Methode bestimmt, deren Genauigkeit u. a. Gammeltoft[1]) durch eine Reihe von früheren Arbeiten zu erhärten imstande war.

Der formoltitrierbare Stickstoff im Harn wurde nach der von Henriques und Sörensen[2]) angegebenen Methode bestimmt; die Titrierung selbst wurde nach unten näher zu er-

[1]) Gammeltoft, Zeitschr. f. physiol. Chem. 75, 1911.

[2]) Henriques, ebenda 60, 1909. — Henriques und Sörensen, ebenda 63, 1909; 64, 1910.

örternden Gründen in Stadien vorgenommen, wie dies Verfahren bereits von Henriques und Gjaldbæk[1]) angegeben worden ist und wie es auch Gammeltoft[2]) in seinen Untersuchungen über den Stickstoffumsatz während der Gravidität ausgeführt hat.

Der p_H des Harns wurde nach Hasselbalch bestimmt; in betreff der angewandten Methode verweisen wir auf diese Zeitschrift[3]), wo sich alle diese Bestimmung betreffenden Details finden; bemerkt sei nur, daß die Messungen bei 37° stattfanden.

Wenden wir uns nun zu den gewonnenen Resultaten, so sei in betreff aller Details auf das ausführliche Versuchsprotokoll verwiesen. Indessen erhält man einen weit übersichtlicheren Eindruck der Resultate, wenn man sie in einzelnen Gruppen sammelt, wie es sich z. B. tun läßt, wenn man aus jedem einzelnen Versuche die mittlere Zahl vor und nach der Geburt herausliest (s. Tabelle I).

Tabelle I.

Durchschnittliche Werte.

Nr. der Gravidität und Protokoll-Nr.	Diurese		Total-N		NH_3-N g pro die		NH_3-N %		Amino-N g pro die		Amino-N %		p_H	
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach
I 251	759	950	8,2	9,4	0,50	0,45	6,1	4,9	0,16	0,17	1,9	1,8	5,34	5,81
I 257	1040	872	9,5	9,5	0,49	0,44	5,2	4,6	0,18	0,13	1,8	1,4	5,02	4,83
I 199[4])	1767	1247	7,4	10,9	0,58	0,75	8,0	6,8	0,25	0,18	3,3	1,6	7,25	6,43
I 218[5])	1905	1015	15,1	9,2	0,85	0,42	5,6	4,7	0,30	0,12	2,0	1,3	5,92	5,35
I 1	1945	1509	8,7	14,2	0,40	0,59	4,6	4,1	0,23	0,17	2,8	1,2	6,11	5,48
I 34	1122	1095	10,9	11,8	0,65	0,59	6,1	4,9	0,25	0,17	2,3	1,4	5,66	5,52
II 13	1256	1648	11,2	14,2	0,62	0,69	5,6	4,9	0,28	0,20	2,4	1,4	5,69	5,56
II 49	769	1936	8,3	9,7	0,50	0,49	6,0	5,0	0,23	0,13	2,7	1,4	5,60	5,70
II 48[6])	1038	1115	11,5	13,8	0,77	0,78	6,8	5,6	0,29	0,17	2,5	1,2	6,18	5,67
I 55	892	630	6,5	9,1	0,31	0,33	4,8	3,7	0,19	0,11	2,9	1,2	5,26	5,05
I 54	1166	811	10,5	11,0	0,66	0,59	6,3	5,4	0,34	0,14	3,2	1,3	5,80	5,16
Durchschnittszahl	1175	1181	9,2	11,4	0,55	0,57	5,9	4,9	0,24	0,16	2,6	1,4	5,80	5,46

[1]) Henriques und Gjaldbæk, ebenda 67, 1910.

[2]) Gammeltoft, Untersuchungen über den Stickstoffwechsel während der Gravidität. Skand. Arch. f. Physiol. 28, 1913.

[3]) Hasselbalch, diese Zeitschr. 47.

[4]) Trat den Versuch erst 1 Monat post partum an.

[5]) 218 ist bei der Berechnung der Gesamtmittelzahl nicht mitgerechnet.

[6]) Stillte nicht.

Diese Tabelle umfaßt im ganzen von 11 Versuchspersonen herrührende Resultate, davon sind jedoch nur 10 zur Berechnung der endgültigen, mittleren Zahl verwendet worden, da Nr. 218 aus später zu besprechenden Gründen ausgeschaltet wurde.

Betrachten wir erst die Diurese, so besteht kein Unterschied zwischen dem graviden und dem nicht graviden Zustand: dieses Resultat stimmt nicht überein mit den Resultaten einer ganzen Reihe von älteren Verfassern wie Winckel[1]), Schönberg[2]), Kehrer[3]), Heinrichsen[4]), Boecker[5]), Zacharjewsky[6]) u. a. m., indem diese dargetan zu haben glaubten, daß normaliter in der letzten Zeit der Gravidität eine Polyurie stattfindet. Von neueren Forschern, die sich mit diesem Problem beschäftigt haben, ist Bar[7]) zu nennen, der einen etwas abweichenden Standpunkt einnimmt. Er behauptet, daß diese Polyurie bei weitem keine konstante Erscheinung ist, daß sie aber bei Multiparae häufiger ist als bei Primiparae. Auch diesen Schluß können wir aus dem vorliegenden Material nicht ziehen. Die drei Multiparae unter unseren Versuchspersonen weisen im Gegenteil alle eine größere Diurese nach der Geburt als vor derselben auf.

Eine teilweise Erklärung ließe sich vielleicht darin suchen, daß unsere Bestimmungen zu verschiedenen Zeiten vor der Geburt ausgeführt wurden, da stets hervorgehoben wird, daß diese Steigerung namentlich in der letzten Zeit ausgeprägt ist. Betrachtet man unsere Versuche daraufhin, so zeigt es sich, daß nur bei Nr. 54 und 55 längere Zeit zwischen dem Abschluß des Versuches und der Geburt selbst verstrichen ist, und bei Nr. 251, 199, 1 und 49 trat die Geburt sogar vor 8 Tagen und in den übrigen Versuchen von 8 bis 14 Tagen nach dem Abschluß des Versuches ein. Nr. 49 ist eigentlich auszuschalten; es handelte sich um einen Fall von Gemelli mit überaus reichlichem Fruchtwasser in dem einen Ei.

---

1) Winckel, Diss. Rostock 1865.
2) Schönberg, Klin. Vers. 1886.
3) Kehrer, Beiträge z. klin. u. exper. Geburtshilfe. Gressen 1892.
4) Heinrichsen, Russ. Diss. 1886 (zit. nach Zacharjewsky).
5) Boecker, Rhein. Monatsschr. 1848.
6) Zacharjewsky, Zeitschr. f. Biol. 1884.
7) Bar, Pathol. obstetrical. Paris 1907.

Wird dieser Fall in der Durchschnittszahl nicht mitgerechnet, so erhält man folgende Werte der Größe der Diurese:

1220 ccm während der Schwangerschaft gegen
1097 " nach der Geburt.

Wie man sieht, ist der Unterschied zwischen den beiden gefundenen Werten nicht groß und als Resumee kann ausgesprochen werden:

Das vorliegende Material bietet keine Stütze für die Annahme dar, daß die Diurese in der letzten Zeit der Schwangerschaft in einem höheren Grade die Norm überschreiten sollte.

Die Untersuchungen über die gesamte Stickstoffmenge haben im allgemeinen die aus den Arbeiten der letzten 10 Jahre wohlbekannte Beobachtung bestätigt, daß der Stickstoffgehalt des Harns in den letzten Schwangerschaftsmonaten relativ gering und im Wochenbett bedeutend höher ist.

Die vorliegende Untersuchung stimmt in diesem Punkt mit früheren von Hagemann[1]), Jägerroos[2]), Bar[3]), Hoffström[4]), Morlin[5]), Gammeltoft[6]) u. a. ausgeführten Untersuchungen überein.

In einem einzelnen, von den in der Tabelle aufgestellten Fällen trifft Obenstehendes nicht zu; im Falle 218 wurden nämlich vor der Geburt 15,1 g N pro die ausgeschieden, während später nach der Geburt nur 9,2 g N ausgeschieden wurden. Indessen bezeichnet dieser Fall eben eine die Regel bestätigende Ausnahme. Es handelt sich um eine Patientin, die wegen einer Hyperemesis an Gewicht und Allgemeinbefinden so weit zurückgekommen war, daß man im Ernst daran dachte, die Schwangerschaft zu unterbrechen. Das Gewicht der Patientin betrug zu dem Zeitpunkt 36 kg; bei einer allgemeinen, diätetischen, psychischen Behandlung erholte sie sich indessen allmählich, fing an zu essen und war zu der Zeit, wo mit ihr

---

[1]) Hagemann, Diss. Erlangen, Berlin 1891.
[2]) Jägerroos, Arch. f. Gyn. 1902.
[3]) Bar, l. c.
[4]) Hoffström, Skand. Arch. f. Physiol. 23, 1910.
[5]) Morlin, American Journ. of Physiol. 26, 1910.
[6]) Gammeltoft, l. c.

Versuche angestellt wurden, nicht zu sättigen; sie aß fast den ganzen Tag, woraus sich die für eine Gravida ungemein hohen Stickstoffwerte im Harn ergaben.

Da es möglich war, daß das Stillen in diesem Zusammenhang eine Rolle spielt, ließ man eine einzelne der angewandten Versuchspersonen nicht stillen; dies war Nr. 48 der Tabelle. Man sieht auch hier, daß der Umstand, daß die Patientin nicht stillte, anscheinend keinen Einfluß auf die gefundenen Zahlen ausgeübt hat. Es wurden nämlich 11,5 g N pro die vor, gegen 13,8 g N pro die nach der Geburt ausgeschieden. Wenden wir uns nun den gesamten Durchschnittszahlen zu, so wurden nach der Geburt 2,2 g N mehr pro die ausgeschieden als während der Gravidität.

Dieser Unterschied ist an und für sich recht groß, ist aber tatsächlich noch größer, wenn man den großen Gewichtsverlust bedenkt, den der schwangere Organismus während der Geburt selbst erlitten hat, und der in unseren darauf untersuchten Fällen durchschnittlich 7 kg pro Individuum beträgt.

Wir kommen danach zur Besprechung der Ammoniakmenge, die in diesem Zusammenhang unleugbar ein größeres Interesse darbietet. Wir müssen hier zwischen den Veränderungen unterscheiden, welche die absoluten und die relativen Werte durchmachen.

Was die absoluten Werte betrifft, sieht man deutlich aus der Tabelle, daß sie praktisch gesprochen vor und nach der Geburt die gleichen sind, nämlich 0,55 g N pro die vor gegen 0,57 g N pro die nach der Geburt; diese Beobachtung weicht von dem Befund früherer Untersucher etwas ab.

Zangemeister[1]), einer der ersten, die Ammoniakbestimmungen im Harn schwangerer Weiber ausführten, fand die Ammoniakmenge etwas vermehrt. Indessen sind seine analytischen Methoden nicht mehr zeitgemäß; zu einigen ähnlichen Resultaten wie Zangemeister kam auch Bar[2]), indem er die absolute Ammoniakmenge im Harn bei Graviden gegen Ende der Schwangerschaft oft vermehrt fand, was er zum Teil der reichlichen Kost zuschreibt.

---

[1]) Zangemeister, Hegars Beiträge 5, 1901.

[2]) Bar, l. c.

Bei Hunden dagegen, die eine konstante Menge Futter erhielten, waren die absoluten Werte sozusagen unverändert, während die relativen einige Steigerung aufwiesen. Falk und Hesky[1]), die eine große Reihe diesbezüglicher Untersuchungen angestellt haben, kamen zu dem Resultate, daß in einer großen Reihe von Fällen in dem allerletzten Teil der Schwangerschaft sowohl die absoluten als die relativen Ammoniakmengen im Harn vermehrt sind; die absolute Vermehrung war jedoch keine konstant auftretende Erscheinung und erreichte keinen besonders hohen Grad, während so gut wie immer eine bedeutende Vermehrung der relativen Werte vorlag. Bei den Bestimmungen der Ammoniakmenge im Harn von schwangeren Frauen, die Gammeltoft[2]) in seiner schon mehrmals angeführten Arbeit mitteilt, war das angewandte Material zu klein, als daß man daraus sichere Schlüsse folgern könnte, wenn es auch Falk und Heskys Untersuchungen zu bestätigen scheint.

Die von Gammeltoft ausgeführten Tierversuche ergaben alle einige Vermehrung sowohl der absoluten als der relativen Werte. Was die relativen Werte betrifft, so können wir bestätigen, daß während der Schwangerschaft eine Vermehrung stattfindet; dagegen fanden wir weit seltener als Falk und Hesky eine Vermehrung der absoluten Werte, was sich ja auch dadurch zu erkennen gibt, daß die beiden mittleren Werte praktisch gesprochen gleich sind. Möglicherweise kann dies von dem Umstand herrühren, daß wir nur selten die Tage unmittelbar vor der Geburt mit herangezogen haben, und namentlich an diesen Tagen ist die Vermehrung am größten; indessen trifft diese Erklärung nicht überall zu.

Bei den relativen Werten gilt keine Ausnahme; in allen untersuchten Fällen waren sie nach der Geburt kleiner, und die gesamte Mittelzahl zeigt in Übereinstimmung hiermit 4,9% nach gegen 5,9% vor der Geburt.

Es kann vielleicht in diesem Zusammenhang von Interesse sein, die hier gefundenen Werte mit denjenigen zu vergleichen, die gewöhnlich für die Ammoniakmenge im Harn angegeben werden. Nach Neubauer[3]) werden täglich 0,58 g N pro die

[1]) Falk und Hesky, Zeitschr. f. klin. Med. 71, 1910.

[2]) Gammeltoft, l. c.

[3]) Neubauer, zit. nach Hammersteins phys. Chemie.

als Ammoniakstickstoff ausgeschieden, was von 4,6 bis 5,6 % der Gesamtstickstoffmenge entspricht. Folin[1]) fand, daß bei einer Kost, deren Stickstoffgehalt ca. 16 g betrug, durchschnittlich pro die 0,7 g Ammoniakstickstoff ausgeschieden wurde, was 4,3 % der Gesamtstickstoffmenge entspricht.

Frühere Versuche von Gammeltoft[2]) ergaben bei gewöhnlicher, gemischter Kost eine tägliche Ausscheidung von 0,5 bis 0,6 g N, was ca. 4 % der Gesamtstickstoffmenge entspricht. Diese Zahlen stimmen gut mit den bei diesen Versuchen gefundenen überein, und nach diesen Untersuchungen ist es als festgestellt zu betrachten, daß die während der normalen Schwangerschaft stattfindende Vermehrung der absoluten Ammoniakmenge, wenn sie vorkommt, nur gering ist.

Um aber auf den Unterschied der relativen Werte vor und nach der Geburt zurückzukommen, möchten wir fragen: „Was bedeutet nun dieser Unterschied?"

Frühere Untersucher haben u. a. die Erklärung aufgestellt, daß die vermehrte Ammoniakmenge im Harn ein Ausdruck davon sei, daß die Leber angegriffen sei, so daß die Harnstoffsynthese, die hauptsächlich hier vonstatten geht, unvollständig war. Zur Unterstützung dieser Ansicht stellte man mehrere Parallelen auf, namentlich von pathologischen Zuständen aus, wo man bei Leberleiden eben eine solche Vermehrung findet.

Indessen trifft diese Erklärung nicht in allen Fällen zu; bei Säurevergiftung z. B. findet man, wie bereits in der Einleitung erwähnt, auch eine sehr starke Vermehrung der Ammoniakmenge im Harn: hier läßt sich aber die Erklärung durch ein primäres Leberleiden kaum aufrecht erhalten; dies ist ein rein regulatorischer Prozeß, der zustande kommt, um die vorhandene Säuremenge zu neutralisieren. Diese Auffassung des Ammoniaks als Regulator des Organismus ist ferner bestätigt worden durch Untersuchungen auf verschiedenen Gebieten von Klein und Moritz[3]), Camerer[4]), Loeb[5]) und Gammeltoft[6]).

[1]) Folin, American Journ. of Physiol. 13, 1905.
[2]) Gammeltoft, l. c.
[3]) Klein und Moritz, Arch. f. klin. Med. 99, 1910.
[4]) Camerer, l. c.
[5]) Loeb, l. c.
[6]) Gammeltoft, l. c.

Die von uns gefundenen Werte stimmen hiermit gut überein. Wenn tatsächlich davon die Rede ist, daß es die Harnstoffsynthese wäre, die unvollständig sei, so wäre es nur wenig wahrscheinlich, daß sich dies durch eine Steigerung der relativen Ammoniakwerte zu erkennen geben sollte. Es wäre dann zu erwarten, daß sich auch eine bedeutende Steigerung der absoluten Zahlen fände. Eine solche Steigerung liegt aber nicht vor. Daß der Ammoniakgehalt des Harns ein sehr wichtiger, maßgebender Faktor in betreff der Acidität des Harns ist, gibt sich auch dadurch zu erkennen, daß zwischen den für den Harn gefundenen p_{H}-Werten und dem Ammoniakgehalt desselben eine gewisse Übereinstimmung besteht.

Dies ist nicht in der Weise zu verstehen, daß wir in unserem Material stets eine vollständige Übereinstimmung zwischen dem p_{H}-Wert und dem Ammoniakgehalt des betreffenden Harns fanden, so daß ein Harn, der einen hohen p_{H} hatte, stets viel Ammoniak enthielt, aber im großen ganzen gestatten die gefundenen Resultate doch folgende Schlußfolgerung:

In viel Ammoniak enthaltendem Harn findet man in der Regel einen hohen p_{H} und umgekehrt bei geringem Ammoniakgehalt einen kleinen p_{H}. Innerhalb derselben Versuchsreihe macht man ferner die Beobachtung, daß bzw. Ab- und Zunahme der ausgeschiedenen Ammoniakmenge gleichzeitig entsprechende Bewegungen der Werte von p_{H} mit sich führen.

Alle gefundenen p_{H}-Werte nach der Geburt sind in Übereinstimmung hiermit auch niedriger als die entsprechenden Werte während der Gravidität, wie Tabelle I zeigt. Die Gesamtmittelzahl ist infolgedessen 5,80 vor gegen 5,46 nach der der Geburt.

Hiervon bildet eine Patientin, Nr. 49, eine Ausnahme; dies ist die Patientin, die Zwillinge bekam, und die in mehreren Beziehungen mit den übrigen nicht übereinstimmt. Ein Faktor, der in betreff des p_{H}-Wertes eine große Rolle spielt, ist die Abführung, was z. B. bei Nr. 16 deutlich hervortritt. Dieser Fall ist unter den in der Tabelle I aufgeführten unberücksichtigt geblieben, weil die betreffende Versuchsperson eine recht bedeutende Anämie, ca. 71% Hämoglobin, und schließ-

lich in der Nachperiode Spuren von Albumen im Harn hatte. Zur Demonstration des Einflusses der Abführung auf $p_{H^{\cdot}}$ läßt der Versuch sich indessen vorzüglich anwenden, wie die folgenden Zahlen zeigen:

14. II.	keine Abführung	$p_{H^{\cdot}}$	5,89
15.	Abführung	$p_{H^{\cdot}}$	5,30
16.	keine Abführung	$p_{H^{\cdot}}$	5,91
17.	Abführung	$p_{H^{\cdot}}$	5,16
18.	spärliche Abführung . . .	$p_{H^{\cdot}}$	5,48
19.	Abführung	$p_{H^{\cdot}}$	5,70
20.	keine Abführung	$p_{H^{\cdot}}$	6,13
21.	Abführung	$p_{H^{\cdot}}$	5,55

Es zeigt sich hieraus deutlich, daß keine Abführung und hohe $p_{H^{\cdot}}$-Werte mit vollständiger Regelmäßigkeit nebeneinander hergehen, und ähnliche Verhältnisse machen sich sehr oft, mehr oder weniger deutlich, in unserem Material geltend sowohl bei spontaner wie bei medikamentös hervorgerufener Abführung. Dieses Umstandes muß man sich erinnern, wenn man Übereinstimmung zwischen den gefundenen $p_{H^{\cdot}}$-Werten und der Ammoniakmenge zu finden sucht, indem Mangel an Abführung störend auf die betreffenden Werte einwirken kann. Keine Abführung führt also einen weniger sauren Harn mit sich.

Es erübrigt noch die Fälle, die besonderer Umstände wegen eine nähere Erörterung verdienen, sowie die Kontrollversuche zu besprechen. Bei Pat. 48, die nicht stillte, zeigt es sich, daß dies keinen Einfluß auf die Abnahme der relativen Ammoniakwerte hatte. Die gewöhnliche Abnahme von ca. 1 % findet sich auch hier. Ganz interessante Verhältnisse bietet Pat. 255 dar; diese Pat. hatte während der Schwangerschaft durchschnittlich 4,7 % Ammoniakstickstoff im Harn; im Wochenbett war sie febril und hatte stark fötide Lochien und war bei der Wiederaufnahme der Versuche nicht afebril. Interessant sind hier die hohen Ammoniakwerte, die sowohl absolut als relativ vorliegen. Es wurde bis 1,2 g Ammoniak-N pro die ausgeschieden, was bis 12,8 % der Gesamtstickstoffmenge ausmachte. Diese hohen Werte fanden sich an den drei ersten Tagen, an denen mit der Pat. Versuche ausgeführt wurden; am vierten Versuchstag ist die Temperatur normal, und an den folgenden Tagen nehmen sowohl die absoluten als die relativen

Werte ab; sie sind am achten Tag nach Anfang des Versuches fast normal.

Es ist der Beachtung wert, daß sich, wie die Tabelle zeigt, neben den hohen Ammoniakwerten auch hohe p_H.-Werte fanden.

Während der durchschnittliche Wert in der Schwangerschaft 5,59 war, stieg dieser Wert gleichzeitig mit der Ammoniakmenge auf 8,04, um, nachdem die Temperaturerhöhung sich verloren hatte, gleichzeitig mit der Abnahme der Ammoniakwerte wieder abzunehmen.

Ähnliche Verhältnisse bietet Pat. 54 dar. Auch diese Pat. war im Wochenbett febril; die Temperaturerhöhung verlor sich indessen schnell und, wie die Tabelle zeigt, wurden hier noch schneller als in dem vorigen Fall normale Werte erreicht. Auch hier bestand gute Übereinstimmung zwischen den gefundenen p_H.-Werten und den Schwankungen der Ammoniakmenge. Während der Fieberperiode war der prozentuelle Ammoniakgehalt 11,2, der p_H. 7,2, später waren die Werte bzw. 6,0 und 5,2.

Was Pat. 49, die Zwillinge gebar, betrifft, so sieht man aus dem Versuchsprotokoll, daß sie, 2 Tage nachdem sie nach der Geburt den Versuch angetreten hat, leicht febril wird, und daß gleichzeitig eine Steigerung des relativen Ammoniakwertes eintritt; als kurz darauf die Temperatur abfällt, geht, wie auch aus dem Protokoll ersichtlich, der Ammoniakwert wieder auf sein gewöhnliches Niveau hinab. Es muß jedoch hinzugefügt werden, daß der p_H. des Harns in diesem Falle keine entsprechenden Schwankungen aufwies.

Schließlich erübrigt sich noch die Besprechung der Kontrollversuche. K. A. H. war ein 39 jähriger, gesunder Mann; er lebte in der Vorperiode von einer gewöhnlichen, gemischten Kost, die jedoch vielleicht ein wenig vegetabilischer war, als was man im allgemeinen unter gemischter Kost versteht. Die gefundenen Ammoniakwerte waren in Übereinstimmung hiermit recht niedrig, 0,46 g N pro die, was 3,6 $^0/_0$ der Gesamtstickstoffmenge entspricht. Die Versuchsperson wurde jetzt auf ausschließliche Pflanzenkost gesetzt; in Übereinstimmung hiermit trat jetzt eine starke Abnahme sowohl der Gesamtstickstoffmenge als der Ammoniakmenge ein. Die Gesamtstickstoffmenge beträgt durchschnittlich nur 6,9 g N pro die gegen 12,7 g während der gemischten Periode. Die absolute Ammoniakmenge nimmt gleich-

falls ab und beträgt nur 0,22 g N pro die, während die relativen Werte unverändert sind, 3,4 gegen 3,6. Der $p_{H^{\cdot}}$ beträgt 6,6 bei Pflanzenkost gegen 5,9 bei gemischter Kost. Der Harn ist, wie dies zu erwarten war, alkalischer geworden. Man ging sodann zu einer strengen Fleischdiät mit großen Mengen von Fleisch über. In Übereinstimmung hiermit nahm die Stickstoffmenge im Harn stark zu. Im ganzen erhielt die Versuchsperson diese Kost 7 Tage lang, und die durchschnittliche Zahl des Gesamtstickstoffes von den vier letzten Tagen betrug 18,9 g N pro die. Davon war 1,05 g N Ammoniakstickstoff, was 5,5 % der Gesamtstickstoffmenge entspricht, eine recht bedeutende Steigerung von 3,4 % ab, während der $p_{H^{\cdot}}$ von 6,83 auf 5,21 abfiel. Um noch zu sehen, auf welche Weise große Gaben von Natrium bicarbonatum auf das Regulationsvermögen des Organismus wirken, wurden nun bei gewöhnlicher, gemischter Kost an ein paar Tagen 25 g $NaHCO_3$ pro die eingegeben. Das Resultat war, daß fast alles Ammoniak aus dem Harn verschwand; es wurden von 20 bis 50 mg täglich ausgeschieden, und gleichzeitig erreichte $p_{H^{\cdot}}$ den abnorm hohen Wert von 8,29. Dieser Fall bietet jedoch noch in anderen Beziehungen ein Interesse dar. Wie in dem Abschnitt von den Respirations- und Blutuntersuchungen näher besprochen werden wird, gelang es bei diesen hohen Gaben von Alkali die Wasserstoffionenkonzentration des Blutes zu erschüttern, mit anderen Worten: die Regulation des Organismus war teilweise aufgehoben; was dieser Versuch zeigt und wodurch er gewissermaßen die an Graviden angestellten Untersuchungen ergänzt, ist, daß man durch Zufuhr von Basen bzw. Säuren den Organismus zu einer verminderten bzw. erhöhten Ammoniakproduktion veranlaßt. Dabei wird die parallele Bewegung der $p_{H^{\cdot}}$- und der NH_3-Werte natürlich aufgehoben. Ein Parallelismus der Bewegung dieser Größen kann nur bei konstanter Ernährung erwartet werden.

Der formoltitrierbare Stickstoff im Harn.

Die Bestimmungen des formoltitrierbaren Stickstoffes im Harn oder kürzer: Aminosäuren des Harns, wurden nach der von Henriques und Sörensen angegebenen Methode ausgeführt. Was uns ursprünglich dazu veranlaßte, die Bestimmung dieser Stoffe mit heranzuziehen, war u. a. der Umstand,

daß wir wußten, daß sie während der Gravidität vermehrt waren. Wir hofften durch Formoltitrierung in Stadien, wie sie in Arbeiten von Henriques und Gjaldbæk und Gammeltoft eingehend besprochen ist, zu erfahren, ob möglicherweise während der Gravidität eine Verschiebung zwischen den einzelnen Stadien stattfindet; wenn dies nämlich der Fall wäre und die Verschiebung in der Weise verliefe, daß die erste Strecke von Lackmusneutral bis Phenolphthaleinneutral lang wäre, würde dies darauf deuten, daß im Harn schwache Säuren ausgeschieden würden, was natürlicherweise in diesem Zusammenhang von Bedeutung ist.

Allerdings hatte Gammeltoft dies schon früher an trächtigen Hunden und Ziegen untersucht, ohne daß es ihm möglich war, einen Unterschied zu finden, aber erstens war das Material, auf dem diese Resultate beruhten, nicht besonders groß, und dazu kam noch, daß alle diese Untersuchungen an Tieren angestellt waren. Wir fanden es daher der Mühe wert, diese Untersuchungsreihe mit heranzuziehen.

Es soll indessen gleich bemerkt werden, daß wir nichts fanden, was die Annahme bestätigte, daß während der Schwangerschaft eine größere Verschiebung zwischen den Stadien stattfindet, so daß es nunmehr gewiß als endgültig festgestellt betrachtet werden darf, daß dies nicht der Fall ist. Daß die Aminosäuren während der Schwangerschaft in größerer Menge als nach der Geburt vorhanden sein sollten, welche Ansicht u. a. von van Leersum[1]), Falk und Hesky[2]) und Gammeltoft[3]) gehegt wird, fanden wir bestätigt. Die durchschnittlichen Zahlen derselben 10 Fälle, die bereits unter den Ammoniakbestimmungen besprochen wurden und in Tabelle I aufgeführt sind, wiesen 0,24 g N pro die vor und 0,16 g N pro die nach der Geburt auf. Weit größer sind die Ausschläge, wo von den relativen Werten die Rede ist; während der formoltitrierbare Stickstoff in der Schwangerschaft 2,6 % der Gesamtstickstoffmenge ist, macht er nach der Geburt nur 1,4 % aus. Auch hier zeigt es sich, daß das Stillen anscheinend keine größere Rolle spielt, indem in dem einen Fall, wo die Mutter

[1]) van Leersum, diese Zeitschr. 11, 1908.
[2]) Falk und Hesky, l. c.
[3]) Gammeltoft, l. c.

nicht stillte, 0,23 g N pro die vor und 0,13 g N nach der Geburt ausgeschieden wurde, was 2,6 und 1,4 % der Gesamtstickstoffmenge entspricht.

Vergleicht man die hier gefundenen Werte mit denen aus den Kontrollversuchen, so findet man, daß es sich in keinem Fall um eine größere Zunahme während der Schwangerschaft weder der relativen noch der absoluten Werte handelt.

Die Durchschnittszahl von K. A. H. bei gewöhnlicher, gemischter Kost war 0,30 g N pro die, d. h. 2,4 % des Total-N; zum Vergleich mag dienen, daß Gammeltoft bei früheren Untersuchungen 0,22 g N pro die, d. h. 2,1 % des Total-N fand.

Im Frauenkontrollversuch wurde in der intermenstruellen Periode durchschnittlich 0,27 g N, d. h. 2,6 % des Total-N gefunden; wir haben also folgende Werte:

Gravide	0,24	2,6 %
K. A. H.	0,30	2,4 %
L. G.	0,27	2,6 %.

In einigem Widerstreit mit den hier gefundenen Werten bei Graviden stehen die früher von Gammeltoft angestellten Untersuchungen, bei denen er wie Falk und Hesky eine weit größere Vermehrung sowohl der absoluten als der relativen Zahlen fand; indessen umfaßt sein Material nur 4 Fälle, und nur in 2 Fällen, die sich der Umstände wegen leider nicht nach der Geburt untersuchen ließen, ist die Vermehrung eine bedeutendere.

In recht bedeutendem Kontrast zu den während der Schwangerschaft gefundenen Werten stehen die nach der Geburt gefundenen; es wurden zu dem Zeitpunkt durchschnittlich nur 0,16 g N pro die als formoltitrierbarer Stickstoff ausgeschieden, was 1,4 % des Total-N entspricht. Worauf diese sehr bedeutende Abnahme beruht, die auch von früheren Untersuchern dieser Frage gefunden wurde, ist nicht in genügender Weise zu erklären gelungen. Daß sie nicht auf dem Stillen beruht, ist bereits besprochen. Diese Abnahme ist um so unerklärlicher, als sie sich auch bei Pat. Nr. 199 findet, die erst zirka einen Monat nach der Geburt den Versuch antrat.

In betreff des etwaigen Einflusses der Kost auf die Ausscheidung von formoltitrierbarem N, besitzen wir an dem mit K. A. H. angestellten Ernährungsversuch ein recht gutes

Material zur Beurteilung dieses Verhältnisses. Man sieht hier, daß in Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen die absoluten Werte am größten sind bei Fleischdiät und am kleinsten bei vegetabilischer Kost, während die relativen Werte am größten sind bei vegetabilischer Kost und am kleinsten bei Fleischdiät. Ferner bemerkt man, daß Ammoniakstickstoff und formoltitrierbarer Stickstoff nicht nebeneinander hergehen, indem sowohl die absoluten als die relativen Ammoniakmengen bei Fleischdiät zunehmen.

Was die Formoltitrierung in Stadien betrifft, so besteht zwischen den beiden Fraktionen die Verschiebung, daß bei strenger Fleischdiät die erste Strecke von Lackmusneutral bis Phenolphthaleinneutral kurz und verhältnismäßig kürzer ist als bei der vegetabilischen Diät und bei der gemischten Diät. Etwas Ähnliches fanden wir, wie bereits erwähnt, nicht während der Schwangerschaft, wo die einzelnen Stadien recht unverändert bleiben.

Wir haben uns also darauf beschränken müssen, festzustellen, daß während der Schwangerschaft sowohl die absoluten wie die relativen Werte, mit den Kontrollversuchen verglichen, keine Vermehrung darbieten. Nach der Geburt findet eine starke Abnahme sowohl der absoluten als der relativen Werte statt, und dies scheint nicht auf dem Stillen zu beruhen. Diese ganze Frage kann somit nicht als gelöst betrachtet werden. Da sie aber in diesem Zusammenhang nur von sekundärer Bedeutung ist und etwas außerhalb des Rahmens dieser Arbeit liegt, haben wir darüber keine eingehenderen Versuche angestellt, meinen aber, daß diese Frage eine besondere Arbeit erfordert.

Bevor wir die Besprechung des Harns abschließen, erübrigt sich noch die Erwähnung einer Reihe von Analysen, die wir am Harn eines jungen, gesunden, 28jährigen Weibes (L. G.) anstellten. Der Versuch erstreckte sich kontinuierlich durch zwei Menstruationsperioden. Diese Untersuchungen wurden ursprünglich in Angriff genommen, um für den Vergleich mit den Graviden einen Kontrollversuch zu haben. Da wir aber dadurch in den Stand gesetzt wurden, einige Beobachtungen zu machen, die von Interesse zu sein scheinen, wollen wir sie kurz besprechen.

Das Interesse knüpft sich hauptsächlich an die Zeit vor und nach der Menstruation. Wir bemerken hier, daß der Harn in einer solchen Weise eingesammelt wurde, daß eine jede Möglichkeit einer Blutvermischung als ausgeschlossen zu betrachten ist, und ferner wurde der Harn täglich sowohl auf Blut als auf Albumen untersucht, ohne daß sich durch diese Untersuchungen je etwas Pathologisches nachweisen ließ. Aus der Tabelle sieht man nun deutlich, wie die Gesamtstickstoffmenge gegen die Menses hin abnimmt, eine bereits früher bekannte Tatsache; da aber die Versuchsperson keine bestimmte Kostrationen erhielt, sondern ad libitum aß, so daß die aufgenommene Nahrung ganz unbekannt ist, bedeuten die gefundenen Zahlen nur sehr wenig.

Weit größere Bedeutung hat es, daß sowohl die absoluten als die relativen Ammoniakwerte prämenstruell eine sogar recht bedeutende Zunahme aufweisen; dies gilt in besonderem Grade von den relativen Zahlen. Der höchste Wert betrug hier am Tage vor den Menses das eine Mal 5,1 % und das andere Mal 6,2 %. Diese Vermehrung hält sich die 3 bis 4 ersten Tage nach dem Aufhören der Blutung, verliert sich dann aber langsam und erreicht mitten in der intermenstruellen Periode ihren niedrigsten Wert von 3,2 %.

Von den relativen Werten des formoltitrierbaren Stickstoffes gilt dasselbe, was oben vom Ammoniakstickstoff gesagt wurde. Vor und nach den Menses betragen sie bis 3,9 % der Gesamtstickstoffmenge, während der niedrigste, intermenstruelle Wert 1,9 % ist.

Dagegen sind die Schwankungen der absoluten Werte weniger charakteristisch, wenn sich auch hier gewissermaßen ein Anlauf zu ähnlichen Schwankungen findet. Dagegen scheint die Wasserstoffionenkonzentration des Harns nicht ähnliche, regelmäßige Kurven zurückzulegen.

Daß die Menses recht tiefgreifende Veränderungen in dem weiblichen Organismus hervorrufen, wird auch durch andere Untersuchungen bestätigt, und die stattfindenden Veränderungen ähneln in vielen Stücken den durch die beginnende Gravidität hervorgerufenen. Vgl. hier z. B. Kjærgaards[1]) Untersuchungen

[1]) Kjærgaard, Zentralblatt f. Gyn. 7, 1914.

über Abderhaldens Reaktion bei gesunden Weibern; er fand prämenstruell Reaktionen, die sich an Stärke und Größe denjenigen näherten, die durch Serum von Graviden hervorgerufen werden.

An der Wellenbewegung, die der weibliche Organismus vom Ende eines Menstruationsprozesses bis zum Anfang des folgenden durchmacht, und woran so viele Funktionen des Organismus beteiligt sind, beteiligt sich auch der Stickstoffwechsel sowohl in betreff des Ammoniaks als des formoltitrierbaren Stickstoffes, so daß die maximalen Werte in der prämenstruellen und menstruellen Periode und die minimalen Werte gerade mitten in der intermenstruellen Pause liegen.

Im Abschnitt von der Respiration ist besprochen, daß etwas Ähnliches auch von der alveolaren CO_2 gilt, und dadurch gewinnen unserer Ansicht nach diese Beobachtungen an Wichtigkeit und erhalten eine generelle Bedeutung. Wir legten ihnen daher so viel Interesse bei, daß wir sie hier nicht ausschalten wollten, wenn sie auch als etwas außerhalb des Rahmens dieser Arbeit liegend bezeichnet werden müssen.

II. Atmung.

Die uns hier am meisten interessierende Funktion ist die alveolare Kohlensäurespannung, die ja mit der CO_2-Spannung des arteriellen Blutes als identisch zu betrachten ist.

Wenn die Auffassung der Schwangerschaft als acidotischer Zustand richtig ist, muß eine Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung während derselben ein gesetzmäßig vorkommendes Ereignis sein.

Methodisches.

Die mit einer bestmöglichen Bestimmung dieser Größe verknüpften Schwierigkeiten sind nach Krogh und Lindhard[1]) bedeutend größer, als man nach der Einführung der relativ einfachen Haldaneschen Methode[2]) allgemein vermutete. Die Verfasser zeigten, daß besonders bei stark variierten Atmungstypen — und bei derselben Frau ist in unseren Versuchen die Atemtiefe vor der Geburt 1,5 bis 2 mal so groß wie nach derselben — die beste Annäherung zu der mittleren alveolaren CO_2-

[1]) Journ. of Physiol. 47, 1914.
[2]) Journ. of Physiol. 32, 1905.

Spannung durch Berechnung mittels der bekannten Bohrschen Formel erreicht wird. Diese Berechnung aber fordert außer den relativ leicht zu ermittelnden Größen des CO_2-Gehaltes der in- und expirierten Luft und der mittleren Atemtiefe auch noch die schwierig zu erreichende, genaue Kenntnis der Größe des schädlichen Raumes. Nun hat Lindhard[1]) auf direkte Bestimmungen des schädlichen Raumes bei einer Anzahl Versuchspersonen beider Geschlechte gestützt eine Formel aufgestellt, wodurch man aus der Länge der Wirbelsäule mit recht großer Genauigkeit die Größe des schädlichen Raumes berechnen kann. Zu Anfang dieser Untersuchungen wurden dann auch, gestützt auf die Lindhardschen Untersuchungen, die alveolaren CO_2-Spannungen aus morgendlichen Atmungsversuchen von 20 Minuten Dauer durch Berechnung ermittelt. Es zeigte sich aber bald, daß bei mehreren der Frauen die Atemtiefe nach der Geburt so außerordentlich klein wurde — gewöhnlich um 350 ccm, in den extremsten, zwar pathologischen Fall sogar nur 170 ccm —, daß ein Fehler von nur 10 ccm in der Schätzung des schädlichen Raumes von gar zu großem Belang wurde. Nun kam es ja, wie leicht zu ersehen ist, nicht so sehr auf die Korrektheit der alveolaren CO_2-Spannungen selbst als vielmehr auf die Korrektheit der Differenz zwischen alveolarer CO_2 nach und vor der Geburt an. Diese Differenz aber wird bei falscher Schätzung des schädlichen Raumes dadurch gefälscht, daß, wie schon hervorgehoben, die Atemtiefe vor und nach der Geburt so verschieden ist. In der Bohrschen Formel wird nämlich durch $A - s$ (Atemtiefe — schädlicher Raum) dividiert. Wenn s konstant, A das eine Mal gleich $4s$, das andere Mal gleich $2s$ und s mit einem relativ bedeutenden Fehler behaftet ist, so wird es einleuchten, daß dieser Fehler die zwei Berechnungen verschieden stark beeinflussen muß.

Wir gingen dann zur Haldaneschen direkten Probenahme der Alveolarluft über. Bei der sehr mangelhaften Selbstkontrolle und recht großen Befangenheit der meisten unserer Versuchspersonen war es gar keine Leichtigkeit, zuverlässige Resultate zu erzielen. Bei den folgenden Vorsichtsmaßregeln gelang das doch nach einigen Tagen fortgesetzter Übung in fast allen Fällen. Durch gleichgültiges Plaudern wurde erst die ruhig dasitzende Versuchsperson besänftigt, und dann während einiger Minuten, unbewußt von ihr, die Atmung aus einem Atmungsgürtel auf einem Kymographion registriert. Die plötzliche auf Kommando vorgenommene Ausatmung in das Mundstück des Haldaneschen langen Schlauches wurde dann ebenfalls registriert, und nur bei korrekter Ausführung des Versuchs die Probe der Lungenluft analysiert. Die meisten der mitgeteilten Analysen betreffen die Lungenluft nach normaler Exspiration („Haldane Ex"), weil diese in der Regel am leichtesten zu beschaffen ist. Nur für eine Person war die plötzliche Ausatmung nach beendigter Exspiration so schwierig zu erlernen, daß wir mit der Gewinnung der Lungenluft nach beendigter Inspiration („Haldane In") besser auskamen. Wie schon bemerkt, kam es ja auf die Differenz der

[1]) Journ. of Physiol. (Proc.) 48, 1914.

alveolaren CO_2 nach und vor der Geburt und nicht so sehr auf die absoluten Größen an.

Die Untersuchungen fanden alle um 10 Uhr vormittags, ungefähr 3 Stunden nach dem ersten Frühstück (Tee, 1 Zwieback ohne Butter) statt.

Die untenstehenden kleinen Tabellen geben die Durchschnittszahlen der alveolaren Kohlensäurespannungen vor und nach der Geburt (Einzelbestimmungen siehe Versuchsprotokoll). Die Tabelle II enthält die berechneten, die Tabelle III die Haldaneschen Werte.

Tabelle II.

Berechnete alveolare CO_2 vor und nach der Geburt[1]).

Nr. der Pat.	Anzahl der Bestimmungen		Alveolare CO_2, mm		Differenz
	vor	nach	vor	nach	
257	2	2	27,7	37,0	**9,3**
255	2	2	29,9	39,6	**9,7**
199	2	2	29,4	39,8	**10,4**
234	3	2	27,8	34,2	**6,4**
218	1	2	31,0	41,8	**10,8**
1	2	3	32,6	41,9	**9,3**

Tabelle III.

Alveolare CO_2 nach Haldane vor und nach der Geburt.

Nr. der Pat.	Anzahl der Bestimmungen		Alveolare CO_2, mm		Differenz
	vor	nach	vor	nach	
15	7	16	35,6	39,3	**3,7**
34	6	16	34,8	42,7	**7,9**
49	12	16	32,5	38,5	**6,0**
48	8	7	28,4[2])	34,3[2])	**5,9**
55	10	4	31,5	38,3	**6,8**
54	8	8	34,5	37,0	**3,5**

Aus den Tabellen ersieht man, daß in allen 12 untersuchten Fällen die alveolare CO_2-Spannung während der Schwangerschaft deutlich — um rund 7,5 mm oder ca. 1⁰/₀ einer Atmosphäre — erniedrigt ist.

In zwei Fällen sind bei derselben Person vergleichende Bestimmungen mittels der beiden angewandten Methoden vorgenommen worden:

---

[1]) Pat. Nr. 16 ist bei dieser Zusammenstellung nicht berücksichtigt, weil die Atemtiefe nach der Geburt nur 170 ccm betrug (s. o. S. 227).

[2]) Haldane In.

Alveolare CO_2 berechnet und direkt bestimmt.

Nr. der Pat.	Berechnet		Haldane Ex	
	Anzahl der Bestimmungen	Alveol. CO_2	Anzahl der Bestimmungen	Alveol. CO_2
15	3	33,6	7	35,6
34	1	32,7	6	34,8

Die berechneten Werte sind in den beiden Fällen um 2 mm niedriger als die direkt bestimmten, was auch zu erwarten ist, weil die letzteren die Lungenluft am Ende der Exspiration, die ersten die mittlere Zusammensetzung der Lungenluft angeben. In diesen beiden Fällen ist demnach die Größe des schädlichen Raumes richtig geschätzt worden. Inwieviel das auch bei den 6 Patienten der Tabelle II der Fall ist, kann nicht bestimmt behauptet werden. Eine für alle 6 Fälle durchgeführte Berechnung, worin die Fehlerbreite bei der Schätzung des schädlichen Raumes so groß wie denkbar angenommen wurde, hat uns aber gezeigt, daß der größtmögliche Fehler, womit die Differenzen (alveolare CO_2 vor — alveolare CO_2 nach d. Geb.) in der Tabelle II behaftet sind, ungefähr $\pm$ 1,5 mm beträgt. Die Unsicherheit bei der direkten Bestimmung ist wahrscheinlich von derselben Größenordnung.

Daß in der Schwangerschaft die alveolare Kohlensäurespannung erniedrigt wird, ist kein neuer Befund. Unabhängig voneinander hatten schon Hasselbalch[1]) (in einem Falle) und Leimdörfer, Novak und Porges[2]) (in einer großen Reihe von Fällen) dasselbe gefunden. In Hasselbalchs Fall betrug die Erniedrigung rund 8 mm, in den 15 Fällen von Porges und Mitarbeiter, wo dieselben Frauen vor und nach der Geburt untersucht wurden, durchschnittlich ungefähr 4 mm. Es verdient hier vielleicht Beachtung, daß Porges und Mitarbeiter sich einer anderen Methode zur Gewinnung der Alveolarluft bedienten als wir, nämlich der Pleschschen Methode.

Diese Herabsetzung der alveolaren CO_2-Spannung ist nach Porges u. M. so früh als im II. Schwangerschaftsmonat zu finden und „stellt daher eine der frühesten Schwangerschaftsreaktionen dar“.

Wir waren imstande, die alveolaren CO_2-Spannungen („Haldane Ex“) einer normalen Frau während langer Perioden (morgendliche Versuche bei nüchternem Magen) verfolgen und dabei den Einfluß einer normal verlaufenden Schwangerschaft

[1]) Skand. Arch. f. Physiol. 27, 1912.

[2]) Zeitschr. f. klin. Med. 75, 1912.

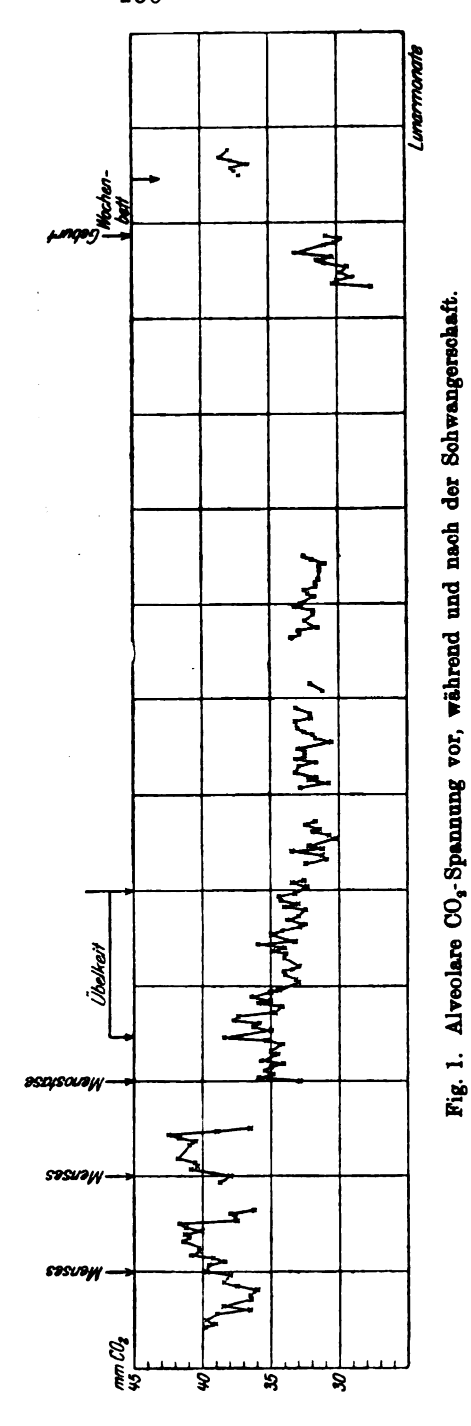


Fig. 1. Alveolare CO_2-Spannung vor, während und nach der Schwangerschaft.

registrieren zu können[1]). Die Resultate sind an der nebenstehenden Kurve abzulesen.

Man ersieht an der Kurventafel (Fig. 1) die die erste ausbleibende Menstruation begleitende Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung von ungefähr 6 mm. Dem Eintritt der Übelkeitsperiode folgt eine vorübergehende kleinere Erhöhung mit allmählichem Übergang in ein 3 bis 4 Monate andauerndes Niveau von ungefähr 32 mm CO_2. Während des letzten Monates ist das Niveau anscheinend noch niedriger, um 30 bis 31 mm; die letzte Bestimmung (5 Stunden) vor dem Anfang der Geburt gibt 30,8 mm. Nach dem zweiwöchentlichen Wochenbett ist das Niveau ungefähr 38 mm, demnach um 7 bis 8 mm höher als während des letzten Schwangerschaftsmonates. Diese Zahlen haben ein besonderes Interesse dadurch, daß die Versuchsperson dieselbe ist wie in Hasselbalchs obenan erwähnter Untersuchung, wo — vor und nach einer früheren Geburt — die Zahlen ebenfalls 30 bis 31 mm vor, 38 bis 39 mm nach der Geburt betrugen.

[1]) Wir verdanken diese Bestimmungen der Assistentin am Finsen-Laboratorium Frau Ida Maar.

Es ergibt sich also das sehr interessante Resultat, **daß die Änderung des Stoffwechsels, wofür die herabgesetzte CO_2-Spannung des Blutes ein Ausdruck ist, von dem allerersten Anfang der Schwangerschaft in fast voller Ausdehnung eintritt.**

In Verbindung mit der unter Kapitel „Harn" nachgewiesenen Bewegung der prozentualen Ammoniakbildung während des normalen Zyklus einer nicht graviden Frau hat die entsprechende Bewegung der alveolaren CO_2 während der 2 Monate vor dem Eintritt der Gravidität (Kurve, Fig. 1) ein gewisses Interesse. Es scheint, als ob auch hier eine Wellenbewegung der Funktion, mit intermenstrueller Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung, stattfindet. Vielleicht stehen die beiden Ereignisse in gegenseitiger Beziehung.

Inwieweit nun die Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung während der Schwangerschaft **einzig und allein** von einer Stoffwechseländerung in acidotischer Richtung bedingt ist, muß vorläufig dahingestellt bleiben. Im Kapitel „Harn" sind wir mit einem Symptom bekannt geworden, das zwanglos als kompensatorische Einrichtung gegen die Acidose aufgefaßt werden kann, nämlich mit der Erhöhung des prozentualen NH_3-Anteils des N-Stoffwechsels. Die Herabsetzung der Blutkohlensäurespannung wirkt in derselben Richtung; doch liegt die Möglichkeit vor, daß der Mechanismus dabei ein ganz anderer ist: daß nämlich primär die Erregbarkeit des Atemzentrums während der Schwangerschaft erhöht und so die Reizschwelle der Blutkohlensäure herabgedrückt ist[1]).

Erst wenn wir mit der $C_{H^{\cdot}}$ des Blutes bekannt geworden sind (s. nächstes Kapitel), können wir diese Möglichkeit näher diskutieren. Hervorgreifend sei hier nur bemerkt, daß in unserem gesamten Versuchsmaterial Erregbarkeitsänderungen keine Rolle gespielt haben. Es wird sich zeigen, daß im großen ganzen die Schwangerschaftsacidose allein für die Herabsetzung der Blutkohlensäurespannung verantwortlich ist.

Die Größe des respiratorischen Stoffwechsels und Quotienten. Bei 6 Patienten verfügen wir über zuverlässige Respirationsversuche vor und nach der Geburt. Wie schon

---

[1]) Siehe: **Hasselbalch**, diese Zeitschr. **46**, 1912 u. Skand. Arch. f. Physiol. **27**, 1912.

oben bemerkt, waren diese Versuche von ca. 20 Minuten Dauer und wurden um 10 Uhr vormittags, 3 Stunden nach dem sehr kleinen und, der Menge und Zusammensetzung nach, konstanten Frühstück, und zwar in ruhig sitzender Stellung, den Kopf gegen die Maske gelehnt, vorgenommen.

In der untenstehenden kleinen Tabelle sind die Durchschnittszahlen (Einzelbestimmungen siehe Versuchsprotokoll) für den respiratorischen Quotienten und Sauerstoffverbrauch (pro kg und Stunde) mit den der Tab. I entstammenden Größen des N-Stoffwechsels zusammengestellt worden.

Tabelle IV.

$\frac{CO_2}{O_2}$, O_2 und N_2-Stoffwechsel vor und nach der Geburt.

Nr. der Pat.	$\frac{CO_2}{O_2}$		ccm O_2 pro kg u. St.		g N_2 im Harn		Körpergewicht in kg	
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach
257	0,90	0,90	238	223	9,5	9,3	61,6	53,1
255	0,92	0,88	234	211	11,0	11,5	64,3	57,9
199	0,77	0,88	288	258	7,4	11,0	55,5	49,0
218	0,97	0,93	264	253	15,1	9,2	56,8	52,0
16	0,86	0,83	254	185	6,4	9,6	47,7	41,4
1	0,85	0,92	267	243	8,7	14,2	60,8	54,1
Im Durchschnitt[1]:								
	0,86	**0,88**	**256**	**224**	**8,6**	**11,1**	**58,0**	**51,1**
pro kg Körpergewicht					**0,15**	**0,22**		
Differenz in % des Wertes nach der Geburt:								
			+14			+32		

Die Größe des respiratorischen Quotienten (Tab. IV) entspricht dem nicht absolut nüchternen Zustande; er ist vor und nach der Geburt von derselben Größe, was für die Gleichmäßigkeit der Ernährung in den beiden Versuchsperioden spricht. Die Patientin Nr. 218 ist die im vorigen Kapitel besprochene, in Miseries gewesene Person, die mit fast unglaublichem Heißhunger kolossale Rationen verzehrte; die von ihr stammenden Zahlen sind für die Durchschnittsberechnung nicht verwertet. Ihr resp. Quotient nähert sich vor wie nach der Geburt der Einheit.

In Übereinstimmung mit dem, was man schon im voraus wußte[2], ist der Sauerstoffverbrauch pro Kilogramm

[1]) Nr. 218 nicht mitgerechnet.

[2]) Literatur siehe: Hasselbalch, Skand. Arch. f. Physiol. 27, 1912.

Körpergewicht während der Schwangerschaft etwas erhöht, in der Tabelle IV im Durchschnitt mit 14 %. Nr. 218 macht hier keine Ausnahme. Die tägliche Stickstoffausscheidung mit dem Harn ist in fast derselben Ausdehnung wie im Gesamtmaterial (Tabelle I) während der Schwangerschaft erniedrigt. Dies wird besonders auffallend, wenn die N-Ausscheidung pro Kilogramm Körpergewicht berechnet wird, die Herabsetzung beträgt dann etwa 32 % (Nr. 218 aus dem oben angeführten Grunde nicht mitgerechnet).

Diese beiden Tatsachen sind schon im voraus bekannt, soviel wir wissen aber nirgends in Zusammenhang miteinander gebracht worden. Es ist eine naheliegende Möglichkeit, die wir aber in Betracht des sehr kleinen Versuchsmaterials als unbewiesen erachten, daß der Sauerstoffverbrauch des graviden Organismus deshalb erhöht werden muß, weil der Stickstoffwechsel — im Interesse des wachsenden Foetus — herabgesetzt ist.

III. Blut.

Dem voranstehenden zufolge sind während der Schwangerschaft Erhöhung des prozentualen NH_3-Anteils des N-Stoffwechsels und Erniedrigung der Blutkohlensäurespannung regelmäßige Befunde. Es ist naheliegend, diese beiden Tatsachen in dem Sinne zu deuten, daß in der Schwangerschaft eine Acidose besteht, die durch die beiden Vorrichtungen mehr oder weniger kompensiert wird. Ob nun wirklich eine Acidose besteht, und wieweit sie normalerweise durch derartige Vorrichtungen kompensiert wird, das können nur Bestimmungen der H-Ionenkonzentration des Blutes entscheiden. Bei einer Acidose muß die „fixierte Acidität“ des Blutes ($C_{H^{\cdot}}$ bei gegebener CO_2-Spannung) gegen die Norm erhöht befunden werden, und bei einer teilweise durch erhöhte Atemtätigkeit kompensierten Acidose muß die „aktuelle Acidität“ des Blutes $C_{H^{\cdot}}$ bei faktischer CO_2-Spannung des Blutes) fast normal sein. Wir wollen jetzt unsere diesbezüglichen Untersuchungen betrachten.

Wie scharfe Forderungen an Genauigkeit der Methode die Beantwortung dieser Fragen stellt, das wird aus der folgenden Überlegung einleuchten. Während der Schwangerschaft war in

unseren Versuchen die alveolare CO_2-Spannung um rund 8 mm erniedrigt, die kleinste gefundene Erniedrigung betrug aber ungefähr 4 mm CO_2. Der Einfluß auf die $C_{H^{\cdot}}$ des Blutes von 4 mm CO_2 ist kein großer, nach früheren Untersuchungen[1]) war von einer solchen Änderung der CO_2-Spannung auf den $p_{H^{\cdot}}$ eine Wirkung von der ungefähren Größe 0,02 zu erwarten. Um sicher zu gehen, mußte die Exaktheit der Methode so weit getrieben werden, daß wenigstens die Hälfte dieses Ausschlages nachweisbar wurde, d. h. eine Wirkung von $\pm$ 2 mm CO_2 oder eine Änderung des $p_{H^{\cdot}}$ mit $\mp$ 0,01. Das sind, wie jedermann weiß, der sich mit der $C_{H^{\cdot}}$-Messung des Blutes, besonders bei Körpertemperatur, beschäftigt hat, straffgespannte Forderungen. Daß wir ihnen gerecht geworden sind, verdanken wir verschiedenen an und für sich kleinen Abänderungen der von Hasselbalch angegebenen und oft beschriebenen Methode[2]), die in Kürze erwähnt werden sollen.

Methodisches.

Das Blut wurde bei sorgfältiger Vermeidung hochgradiger oder langwieriger Stase sowie größerer Muskelcontractionen seitens der Versuchsperson aus einer Armvene gewonnen. Es wurde sofort durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert und durch Porzellanfilter filtriert und dann so schnell wie möglich für die $C_{H^{\cdot}}$-Bestimmung verwertet. Blut, das während der Nacht genommen (nur in Eklampsiefällen), wurde bis zum Morgen auf Eis aufbewahrt. Für eine $C_{H^{\cdot}}$-Bestimmung reichten bei der benutzten Apparatur (s. u.) 3 bis 4 ccm aus, die im Thermostaten in einer Rollflasche erwärmt und aus einem Spirometer mit der gewünschten CO_2-Mischung gesättigt wurden, während gleichzeitig das armierte Elektrodengefäß mit H_2 beladen wurde.

Das Elektrodengefäß (s. Fig. 2) ist eine besonders für Blut konstruierte neue Abänderung des bekannten Prinzips, die sich bei diesen Untersuchungen gut bewährt hat. Bei dem maschinellen Schaukeln des Gefäßes wird die wasserstoffgesättigte Platinschwammelektrode von dem Blut überspült und dabei dasselbe recht schnell — in ungefähr 15 Minuten — fast vollständig reduziert. Nun wird das Schaukeln eingestellt und das Elektrodengefäß von außen her so geneigt, daß der Rand der Elektrode die Oberfläche des Blutes eben berührt (s. Fig. 2). Eine kleine elektrische Lampe im Thermostatenraum, die bei dieser Gelegenheit angezündet werden kann, erleichtert die genaue Einstellung auf minimale Berührung [Michaelis, Methode des geringen Eintauchens[3])].

[1]) Hasselbalch und Lundsgaard, diese Zeitschr. 38, 1912.
[2]) Siehe besonders diese Zeitschr. 49, 1913.
[3]) Diese Zeitschr. 18, 1909.

Nach der Ablesung des Elektrometers wird das Blut einmal erneuert, und das schließliche Potential wird nach wiederholtem Schaukeln durch mehrere Ablesungen verifiziert.

Diese Kombination der Schaukelmethode mit der sorgfältig durchgeführten „Methode des geringen Eintauchens" ist, an Blut angewandt, darin begründet, daß das schließliche Potential erst nach vollständiger Reduktion von der Blutschicht, womit die Elektrode während der Ablesung in Berührung ist, vorliegen kann. Deshalb wird durch die energische Bearbeitung der ganzen wasserstoffgesättigten Platinschwammoberfläche mit dem bewegten Blute so schnell wie möglich die ganze Portion beinahe vollkommen reduziert, und nachher die minimale Blutschicht, womit während der Ablesung die Elektrode in Berührung ist, in wenigen Minuten vollständig reduziert.

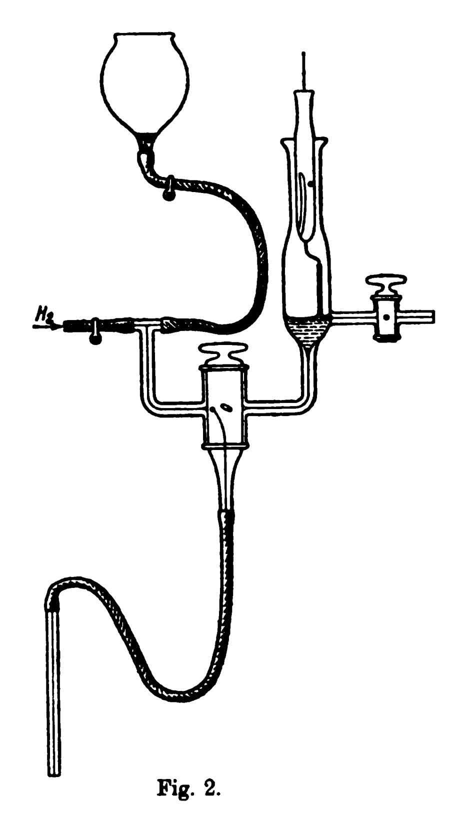


Fig. 2.

Während der Beladung des Elektrodengefäßes mit Blut durch den Trichter (s. Fig. 2), der innerhalb des Thermostatenraumes isoliert aufgehängt ist, streicht der warme CO_2-haltige Luftstrom aus dem Spirometer in den Trichterraum hinein, damit das Blut keine CO_2 verlieren soll. Der kleine Temperaturabfall des Thermostaten, der aus diesen sehr schnell vorzunehmenden Manipulationen erfolgt, ist innerhalb 10 Minuten, d. h. während des Schaukelns, total retabliert.

Wenn man bei 37° mit Blut arbeitet, ist es auch aus anderen Gründen notwendig, sehr schnell zu verfahren. Erstens fängt das Blut in vitro nach einem Aufenthalt von einigen Stunden bei 37° an, merkbar saurer zu werden. Zweitens leidet die Elektrode von der langwierigen Berührung mit dem Blut. Die Elektrode darf nie mehr als 1 Stunde mit dem Blut in Berührung bleiben; die meisten der untenstehenden Bestimmungen sind innerhalb 45 Minuten beendet worden. Wenn man dann vor der zweiten Bestimmung die Elektrode sorgfältig in fließendem destillierten Wasser abspült, ist sie wieder einmal gebrauchsfähig, muß dann aber frisch platiniert und vor dem Gebrauche auf ihre Korrektheit geprüft werden. Dazu wurde eine der Sörensenschen Puffermischungen mit bekannter C_H benutzt.

Wir haben demnach bei diesen Untersuchungen immer neu platinierte Elektroden verwendet. Das war bei den früheren Untersuchungen

von Hasselbalch und Lundsgaard[1]) nicht der Fall, umgekehrt wurde damals die Elektrode vor dem Gebrauch immer erst an Blut geprüft. Die Sachlage ist ein bißchen verwickelt, scheint aber nach späteren Untersuchungen so beschaffen zu sein. Die ersten 2 (bis 3) Messungen an Blut bei 37° mit einer frisch platinierten Elektrode geben konstante und relativ alkalische Werte, die folgenden 6 bis 7 Messungen sind ebenfalls annähernd konstant, aber ein klein wenig saurer, nachher gibt die Elektrode, die inzwischen mit Ausfällungen von Albumin bedeckt worden ist, mehr und mehr saure Werte und ist, was durch Prüfungen leicht zu erkennen ist, entschieden „krank". In welchem von den beiden ersten Stadien gibt aber die Elektrode die absolut richtigen Werte? Durch die gewöhnliche Prüfung in Pufferlösungen kann die Frage nicht entschieden werden, denn die Elektrode benimmt sich dabei normal, nur daß sie im „zweiten" Stadium vielleicht etwas langsamer als im „ersten" arbeitet.

Von der Vorstellung geleitet, daß es die wachsenden Ausfällungen auf der Elektrode sind, die langsam das Resultat verfälschen, haben wir uns, ohne des näheren auf das Problem einzugehen, dazu entschlossen, nur die mit frisch platinierter Elektrode erzielten Resultate zu verwerten, und sind deshalb wie oben beschrieben vorgegangen.

Weil es auch hier, wie bei der Untersuchung der alveolaren CO_2, mehr auf richtige Differenzen als auf absolute Werte ankam, ist die Frage nicht von großer praktischer Wichtigkeit, und bei dem in allen Fällen gleichen Verfahren sind die Resultate unter sich vergleichbar, d. h. die Differenzen korrekt.

Die hier geschilderte und motivierte Abweichung von der früher benutzten Methodik ist es, die hier eine etwas andere Größe des $p_{H^{\cdot}}$ im menschlichen Blute erscheinen läßt. Früher wurde bei der Versuchsperson K. A. H. der $p_{H^{\cdot}}$ des arteriellen Blutes bei 37° im Mittel gleich 7,35, jetzt wird er gleich 7,41 gefunden.

Der Einfluß einer gegebenen Änderung der CO_2-Spannung auf den $p_{H^{\cdot}}$ des Blutes ist aus Hasselbalch und Lundsgaards Kurven für Ochsenblut bekannt; eine Erhöhung von 30 mm auf 40 mm CO_2 bewirkte eine durchschnittliche Änderung des $p_{H^{\cdot}}$ von 7,45 bis auf 7,38 oder eine Erniedrigung von 0,07. In den folgenden Bestimmungen an Menschenblut beträgt die entsprechende Erniedrigung 0,05, und, was von methodischem Interesse ist, sowohl in den Fällen, wo die Bestimmung bei 30 mm CO_2 zuerst, die bei 40 mm CO_2 zuletzt vorgenommen wurde, als bei umgekehrter Reihenfolge der Bestimmungen. Das bedeutet, daß die Elektrode in der zweiten Bestimmung immer noch als „frisch platiniert" anzusehen ist, sonst würde, wie eine einfache Überlegung lehrt, die Differenz groß sein, wenn die Bestimmung bis 30 mm CO_2 zuerst vorgenommen wurde, und klein, wenn diejenige bei 40 mm die erste Bestimmung war.

---

[1]) l. c.

Die Hämoglobinbestimmung geschah mit Benutzung des Autenrieth-Königsbergerschen Apparats, wo der in Hämatin umgewandelte Blutfarbstoff durch Verschiebung eines Vergleichkeiles mit Hämatin colorimetrisch bestimmt wird. Der Apparat wurde zuerst mittels eines schon im voraus justierten Haldaneschen Hämoglobinometers geeicht, so daß absolute Werte erzielt werden konnten[1]. Der Hämoglobinwert 100 entspricht 18,5 Vol.-% O_2 im Blute, ans Hämoglobin gebunden.

Versuchsergebnisse.

Es lag nicht in unserem Versuchsplan, irgendein größeres Kontrollmaterial von nicht graviden Menschen herbeizuschaffen. Das Wesentliche war eben die Vergleichung des graviden Zustandes mit dem postgraviden. Bei 12 Frauen nach der Geburt liegen (s. u.) die Werte des p_{H} im Blute bei alveolarer CO_2-Spannung zwischen 7,40 und 7,49. Bei einem normalen Manne (K. A. H.) bei gemischter Diät war p_{H} am 24. I. 7,415, am 27. III. 7,41. Bei einem normalen, nicht graviden Weibe wurde p_{H} bei alveolarer CO_2 gleich 7,47 gefunden. Diese drei Größen liegen also innerhalb des für die jungen Mütter geltenden Bereiches.

Der mit K. A. H. vorgenommene Ernährungsversuch (siehe Versuchsprotokoll) hatte den Zweck, zu entscheiden, ob bei der benutzten Methodik ganz kleine Verschiebungen der fixierten Acidität des Blutes nachweisbar waren. Aus früheren Untersuchungen[2] war schon bekannt, das eine vegetarische Diät die fixierte Acidität des Blutes vermindert und die alveolare CO_2-Spannung erhöht, während eine kohlenhydratfreie Diät die fixierte Acidität des Blutes erhöht und die alveolare CO_2-Spannung vermindert. Bei der Wiederholung dieses Versuches gelang es aus unbekannten Gründen nicht mehr, für die alveolare CO_2 so große Ausschläge wie damals zu erreichen: nach 1 Woche Pflanzenkost war die alveolare CO_2 42,5 mm, nach 1 Woche Fleisch-Fettdiät 39,9 mm. Doch erwies es sich als möglich, den entsprechenden kleinen Unterschied in fixierter Acidität des Blutes experimentell zu bestätigen, was aus der untenstehenden Zusammenstellung hervorgeht.

[1]) Für ausgezeichnete Hilfe bei dieser Eichung sind wir Frau Dr. M. Krogh zu großem Danke verpflichtet.

[2]) Hasselbalch, diese Zeitschr. 46, 1912.

$p_{H^{\cdot}}$ im Blute von K. A. H. bei verschiedener Diät.

	$p_{H^{\cdot}}$ des Blutes bei 30 mm CO_2	$p_{H^{\cdot}}$ des Blutes bei 40 mm CO_2	Alv. CO_2	$p_{H^{\cdot}}$ bei alv. CO_2	Hb
Pflanzenkost . .	7,47	7,41	42,5	**7,40**	107
Fleischkost . .	7,46	7,40	39,9	**7,40**	112

Sowohl bei 30 mm als bei 40 mm CO_2 zeigt sich das Blut während der vegetarischen Periode ein klein wenig alkalischer als während der Fleischdiät. Weil aber im ersten Falle die Spannung der Blutkohlensäure 2,6 mm höher ist als im zweiten, ist die aktuelle Reaktion des Blutes in den beiden Fällen gleich, $p_{H^{\cdot}} = 7{,}40$.

Die erste der gestellten Hauptfragen: Besteht während der Schwangerschaft eine Acidose, d. h. eine Erhöhung der fixierten Acidität des Blutes? wird durch die folgende Übersichtstabelle beantwortet. Die Werte des $p_{H^{\cdot}}$ für 30 bzw. 40 mm CO_2 sind aus den naheliegenden, direkt beobachteten Werten (s. Versuchsprotokoll) durch graphische Interpolation gewonnen, um eine Vergleichung zu erleichtern.

Tabelle V.

Fixierte Acidität des Blutes vor und nach der Geburt.

Nummer der Pat.	$p_{H^{\cdot}}$ bei 30 mm CO_2			$p_{H^{\cdot}}$ bei 40 mm CO_2			Hb %	
	vor	nach	Diff.	vor	nach	Diff.	vor	nach
218	7,45	7,48	0,03	7,40	7,44	0,04	103	104
16	7,47	7,54	0,07	7,40	7,48	0,08	105	71
15	7,51	7,51	0,00	7,45	7,45	0,00	92	97
1	7,43	7,47	0,04	7,39	7,43	0,04	103	102
49	7,45	7,47	0,02	7,39	7,44	0,05	81	90
48	{7,44 7,45}	7,51	0,07	{7,38 7,37}	7,45	0,07	94	105
55	7,41	7,49	0,08	7,38	7,43	0,05	101	110
54	7,39	7,45	0,06	7,35	7,38	0,03	95	99
34	7,44	7,46	0,02	—	—	—	100	108
Im Durchschnitt	7,44	7,49	0,05	7,39	7,44	0,05		

Die Tabelle besagt, daß bei gegebener CO_2-Spannung das Blut der Schwangeren sehr deutlich — im Durchschnitt um 0,05 des Wertes von $p_{H^{\cdot}}$ — saurer ist als das der Mütter.

Nur eine Patientin, Nr. 15, macht eine Ausnahme, indem hier das Blut vor der Geburt von genau derselben fixierten Acidität ist wie nach derselben. Es verdient vielleicht Beach-

tung, daß die Untersuchung dieser Patientin ausnahmsweise so früh wie 2 bis 3 Monate vor der Geburt geschah.

Daß die normale Schwangerschaft, wenigstens in den späteren Stadien, von einer wirklichen Acidose begleitet ist, steht demnach fest. Es erhebt sich jetzt die Frage, wie weit die von der Acidose bedingte ausgiebigere Lungenventilation, wodurch die alv. CO_2-Spannung herabgesetzt wird, der Acidose entgegenwirkt.

Um diese Frage zu entscheiden, muß man die aktuelle Acidität, die C_H des Blutes bei der bestehenden alv. CO_2-Spannung, vor und nach der Geburt vergleichen.

Eine solche Vergleichung ist auf der untenstehenden Übersichtstabelle vorgenommen worden. Die alv. CO_2-Spannungen sind die direkt vor der Blutprobenahme bestimmten, sie sind mit den aus den benachbarten Tagen stammenden praktisch identisch. Die ersten acht p_H-Bestimmungen (Tabelle VI) sind in jeder Beziehung vollständig und gelungen und sind für die Durchschnittsberechnung verwertet worden. Die vier zuletzt angeführten Reihen sind teilweise verunglückt.

Tabelle VI.

Aktuelle Reaktion des Blutes vor und nach der Geburt.

Nummer der Pat.	p_H bei 40 mm CO_2		Alveol. CO_2 mm		p_H bei alveol. CO_2	
	vor	nach	vor	nach	vor	nach
218	7,40	7,44	31,0	42,2	**7,44**	**7,48**
16	7,40	7,48	27,7	43,5	**7,49**	**7,46**
15	7,45	7,45	35,6	39,8	**7,48**	**7,45**
1	7,39	7,43	32,5	43,5	**7,42**	**7,42**
49	7,39	7,44	32,7	37,7	**7,43**	**7,45**
48	7,38	7,45	27,7	33,5	**7,45**	**7,49**
55	7,38	7,43	30,3	38,3	**7,41**	**7,44**
54	7,35	7,38	33,8	37,3	**7,38**	**7,40**
Mittel[1]) 1.	**7,39**	**7,44**	**31,3**	**39,5**	7,44	7,44
Mittel[2]) 2.	**7,39**	**7,43**	**32,3**	**38,1**	7,43	7,44
199	—	7,44	29,4	40,9	—	**7,48**
34	7,41	—	34,4	42,0	**7,42**	—
257	—	7,42	27,7	36,1	—	**7,44**
234	—	—	27,8	34,2	—	**7,46**

[1]) Mittel aus den 8 obenstehenden Bestimmungen.

[2]) Mittel aus den Bestimmungen Nr. 15, 49, 48, 55 und 54, alveol. CO_2 ad modum Haldane.

Die Tabelle lehrt uns, daß im Durchschnitt aller Fälle die Schwangerschaftacidose durch die herabgesetzte Spannung der Blutkohlensäure praktisch vollkommen (Mittel 1) oder doch fast vollkommen (Mittel 2) kompensiert worden ist, indem bei der erhöhten fixierten Acidität (p_H 7,39 gegen p_H 7,44) die aktuelle Acidität unverändert (p_H 7,44) oder fast unverändert (p_H 7,43 gegen 7,44) ist.

In den Einzelfällen erblickt man zwar kleinere Abweichungen nach beiden Seiten hin. Diese Abweichungen können auf zweierlei Weise erklärt werden. Erstens durch Versuchsfehler; man muß sich vergegenwärtigen, daß die Fehler der alv. CO_2-Bestimmung und die der C_H-Bestimmung im Blute sich bei dieser Gelegenheit summieren. Zweitens aber durch geänderte Erregbarkeit des Atemzentrums. In dem von Hasselbalch[1]) darauf untersuchten Fall fand sich während des letzten Schwangerschaftsmonats eine bedeutend höhere Erregbarkeit des Zentrums für CO_2 und damit für H-Ionenüberschuß als nach dem Wochenbett. Ähnliches muß der Fall gewesen sein bei der Pat. Nr. 15, wo in der Schwangerschaft die fixierte Acidität des Blutes genau dieselbe war wie nach der Geburt, und wo dennoch die alv. CO_2-Spannung um 4 mm niedriger als nach dem Wochenbett gefunden wurde. Auf der anderen Seite kommt die Möglichkeit einer stark gesteigerten Erregbarkeit des Atemzentrums während der ersten Tage nach dem Wochenbett einem keineswegs befremdend vor. Wenn man Versuchsfehler ausschließen dürfte, sollte ja der Theorie nach in allen Fällen der p_H des Blutes bei der alv. CO_2-Spannung ein direktes Maß für die Erregbarkeit des Zentrums sein: bei hohem p_H große Erregbarkeit, bei kleinem p_H geringe Erregbarkeit.

Wie dem nun auch ist, für ein gesetzmäßiges Verhalten der Erregbarkeit während der Schwangerschaft im Vergleich mit der Erregbarkeit nach dem Wochenbett bietet unser Material keinen Anhaltspunkt, und wir glauben das Richtige getroffen zu haben, wenn wir Versuchsfehler und wechselnde Erregbarkeiten des Zentrums dadurch eliminieren, daß wir aus einer Durchschnittsberechnung aller Fälle das Hauptgesetz ab-

[1]) Skand. Arch. f. Physiol. 27, 1912.

leiten, das demnach lautet: durch erhöhte Atemtätigkeit wird in der normalen Schwangerschaft die Acidose annähernd kompensiert.

In den 5 Fällen (Tabelle VI), wo die alv. CO_2 nach Haldane bestimmt worden ist, ergibt die Durchschnittsberechnung (Mittel 2), daß während der Schwangerschaft der p_H ein wenig kleiner bleibt als nach dem Wochenbett, 7,43 gegen 7,44. Der kleine Unterschied dürfte reell sein und würde dann die erhöhte Atemtätigkeit während der Schwangerschaft erklären, ohne Zuhilfenahme einer erhöhten Erregbarkeit des Atemzentrums.

Auf der Tabelle VI finden sich zwei Fälle, die im Kapitel „Harn" als pathologisch betrachtet wurden, die Pat. Nr. 16, die nach der Geburt recht stark anämisch wurde (Hb 71 % gegen 105 % vor der Geburt) und Nr. 34, die an Cystitis erkrankte. Bei diesen beiden Patientinnen war der gesetzmäßige Verlauf der NH_3-Regulation nach der Geburt gestört. Es ist von Interesse, daß die C_H-Regulation durch die Atmung ganz gesetzmäßig verlaufen ist.

Die wenigen Beobachtungen, die das Blut von Eklamptikern betreffen, sind in der untenstehenden Übersichtstabelle aufgeführt.

p_H des Blutes bei Eklamptikern.

Fall Nummer	p_H des Blutes bei 30 mm CO_2	p_H des Blutes bei 44 mm CO_2	Hb %
I	7,43	7,38	103
II	7,23	7,19	85
III	—	7,23	98,5
IV	7,42	7,36	78

In den beiden Fällen I und IV ist die fixierte Acidität des Blutes nicht abnorm, indem bei 40 mm CO_2 die Werte des p_H 7,38 bzw. 7,36 betragen, die normalen Werte für Schwangere (Tabelle V) liegen zwischen 7,35 und 7,45. In den beiden übrigen Fällen dagegen, wo die Zahlen 7,19 und 7,23 sind, darf man, auch ohne Kenntnis von den alv. CO_2-Spannungen, bestimmt behaupten, daß eine unkompensierte Acidose bestanden hat. Keine noch so ausgiebige Lungenventilation würde in einem so sauren Blute einen $p_H = 7,44$ schaffen können. Der klinische Verlauf der beiden Fälle (siehe Protokoll) gestaltete sich auch bedeutend ernster als in den Fällen I und IV.

Wie wir schon eingangs betonten, ist mit dem Nachweis einer abnorm sauren Blutreaktion natürlich nichts über die Art und die eventuellen spezifischen Giftwirkungen der betreffenden Säuren gesagt. Eine Therapie gegen die abnorme Anhäufung der relativ unschädlichen H-Ionen im Blute zu richten (vgl. Alkalitherapie bei Coma diabeticum) kann in solchen Fällen nur einen sehr beschränkten Wert haben.

Ebenso wie die normale Wechselbeziehung zwischen der $C_{H^\cdot}$ des Blutes und der Atmung in pathologischen Fällen durch eine übermäßige Säureproduktion verändert werden kann (unkompensierte Acidose s. o.), so deutet der untenstehend resümierte Versuch darauf hin, daß es bei übermäßiger Zufuhr von Alkalien möglich ist, diese Regulation zu beeinflussen, oder wie man auch sagen könnte, solche Bedingungen zu schaffen, daß die sonst überragende Rolle der H-Ionen als Atmungsregulatoren etwas beschränkt wird. Es ist in diesem Versuch gelungen, dem Blut eine entschieden mehr alkalische Reaktion als die normale beizubringen, und diese Wirkung läßt sich einen Tag nach dem Aufhören der Alkalidarreichung noch verspüren.

Alkaliversuch. Versuchsperson K. A. H.

Datum	Diät	$p_{H^\cdot}$ bei 30 mm CO_2	$p_{H^\cdot}$ bei 40 mm CO_2	Alveol. CO_2 mm	$p_{H^\cdot}$ bei alveol. CO_2	$\frac{NH_3-N}{N}\cdot 100$ im Harn
27. III.	Gemische . . .	7,46	7,41	40,0	7,41	3,6
3. IV.	Pflanzenkost . .	7,47	7,41	42,5	7,40	3,4
10. IV.	Fleischdiät . . .	7,46	7,40	39,9	7,40	5,5
17. IV.	Nach 2 Tagen Mischdiät mit 25 g $NaHCO_3$.	7,57	7,52	47,1	7,48	0,2
18. IV.	Mischdiät	7,53	7,47	42,0	7,46	1,0

Die durch die Alkalizufuhr stark herabgesetzte fixierte Acidität des Blutes (bei 40 mm CO_2 $p_{H^\cdot}$ 7,52 gegen 7,40) hat das Atemzentrum zu einer bedeutend verminderten Aktivität veranlaßt, die sich in der höchst abnormen Größe der alv. CO_2-Spannung, 47 mm, kundgibt. Erst eine alv. CO_2-Spannung von der nie beobachteten Größe 61 mm würde aber den normalen $p_{H^\cdot}$ des Blutes herbeigeführt haben.

Es ist demnach möglich, die Schranken, die der Organismus für die Bewahrung seiner Neutralität gesetzt hat, zu durchbrechen. Die normale Ammoniakbildung ist durch die Alkali-

zufuhr fast vollständig zum Aufhören gebracht, und die Spannung der Blutkohlensäure ist bedeutend erhöht worden, dennoch ist die resultierende aktuelle Blutreaktion merkbar in die alkalische Richtung verschoben. Am folgenden Tage ist sowohl was die NH_3-Bildung als was die alv. CO_2 und den $p_{H^\cdot}$ des Blutes betrifft eine beginnende Rückkehr zur Norm sehr deutlich zu beobachten.

Das Neutralisationsvermögen des Blutes gegenüber CO_2. In der Einleitung wurde die neutralitätsregulierende Rolle des Blutes selbst, als Puffergemisch betrachtet, kurz erwähnt. In welchem Grade die $C_{H^\cdot}$ des Blutes durch die im Körper selbst produzierte und davon fortgeschaffte Kohlensäure unaufhörlich fluktuiert, das wird durch unsere Untersuchungen illustriert. Von besonderem Interesse scheint uns die Frage, ob vielleicht die Schwangerschaft in dieser Beziehung abweichende Verhältnisse herbeiführt. Bedeutet vor und nach der Geburt eine Erhöhung der Blutkohlensäurespannung von 30 mm bis auf 40 mm CO_2 dieselbe Erhöhung der H-Ionenkonzentration oder eine verschiedene?

Diese Frage wird durch die folgende Übersichtstabelle beantwortet. ($p_{H^\cdot}$ 30 bzw. $p_{H^\cdot}$ 40 bedeutet $p_{H^\cdot}$ des Blutes bei 30 bzw. 40 mm CO_2.)

Tabelle VII.

Einfluß der CO_2 auf $p_{H^\cdot}$ des Blutes vor und nach der Geburt.

Nummer der Patientin	$p_{H^\cdot}$ 30 ÷ $p_{H^\cdot}$ 40 vor	nach
218	0,05	0,04
16	0,07	0,06
15	0,06	0,06
1	0,04	0,04
49	0,06	0,03
48	{0,06 0,08}	0,06
55	0,03	0,03
54	0,04	0,07
	Mittel: 0,054	0,053

Diesen Bestimmungen zufolge ist im **Blute der Schwangern und in dem der Mütter der Einfluß der Kohlensäure auf die $C_{H^\cdot}$ des Blutes gleichgroß.**

Was die Wirkungsgröße betrifft, die hier also im Durchschnitt für $p_{H^\cdot}$ 30 — $p_{H^\cdot}$ 40 0,054 beträgt, so variierte in den

sechs Bestimmungen bei K. A. H. die Größe zwischen 0,05 und 0,07, bei der normalen weiblichen Kontrollperson war p_H 30 — p_H 40 = 0,08. Im Ochsenblut fanden Hasselbalch und Lundsgaard[1]) im Durchschnitt 0,07. Peters[2]) fand in Barcrofts Blut 0,09 (von Peters wurde eine etwas abweichende Methode benutzt, indem das Blut schon vor der Elektrometrie total reduziert wurde).

Ohne des näheren auf diese Verhältnisse einzugehen, wünschen wir hier nur so viel hervorzuheben, daß je kleiner die Größe p_H 30 — p_H 40 ist, um so besser ist das Blut für Neutralisationsregulation gegenüber CO_2 geeignet. Je größer sie ist, um so mehr bedeutet eine gegebene Erhöhung der CO_2-Spannung für die C_H des Blutes, und um so stärker müssen solche nervösen Zentra, die — wie das Atemzentrum — auf H-Ionen reagieren, von einer gegebenen Erhöhung der CO_2-Spannung inzitiert werden.

Diese Bilanz zwischen großer Stabilität der Blutreaktion und feiner Einstellung von Nervenzentren scheint uns von dem größten physiologischen Interesse zu sein.

Zusammenfassung der Hauptergebnisse.

Vergleichende Bestimmungen an einer Anzahl Frauen während der letzten Schwangerschaftsmonate und einige Wochen nach der Geburt haben uns gezeigt:

1. Der prozentuale Ammoniakanteil des Stickstoffwechsels ist während der Schwangerschaft erhöht und die aktuelle Acidität des Harns erniedrigt.

2. Die Spannung der Blutkohlensäure ist während der Schwangerschaft erniedrigt.

3. Diese Befunde deuten darauf hin, daß während der Schwangerschaft eine vermehrte Säureproduktion stattfindet, die zu kompensieren die betreffenden Vorrichtungen geeignet sind.

4. Faktisch zeigen Blutuntersuchungen, daß in der Schwangerschaft eine relative Acidose besteht,

---

[1]) l. c.

[2]) Barcroft, The respiratory function of the blood. Cambridge 1914, S. 319.

die durch die herabgesetzte Blutkohlensäurespannung praktisch kompensiert wird. In einigen Fällen von Eklampsie lag eine unkompensierte Acidose vor.

5. Die Natur der in der Schwangerschaft in relativem Überschuß produzierten Säuren ist unbekannt. Die Menge des formoltitrierbaren Stickstoffs im Harn der Schwangeren ist normal, in dem postpuerperalen Zustand aber bedeutend herabgesetzt, gleichviel ob Lactation stattfindet oder nicht.

6. Das Kohlensäure neutralisierende Vermögen des Blutes ist in den beiden Zuständen gleich groß.

Für das große Entgegenkommen der Herren Prof. Dr. L. Meyer und Dir. Dr. Hauch, das uns die Durchführung dieser Versuche ermöglicht hat, sagen wir unseren besten Dank aus.

Versuchsprotokoll.

Nr. 251.

28jährige I gravida. 1. XII. 1913 in der Abteilung für Schwangere aufgenommen. Die objektive Untersuchung bot nichts Besonderes dar. Der Harn sauer, klar, kein Albumen. Versuche 9. XII. — 13. XII. Gebar 16. XII. ein ausgetragenes Mädchen (3950 — 53). Wochenbett natürlich; wieder Versuche 22. XII. bis 24. XII. 25. XII. entlassen.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_H
9. XII.	780	9,7	0,53	0,21	5,5	2,2	5,33
10.	570	6,9	0,48	0,11	6,9	1,6	5,33
11.	830	8,3	0,52	0,16	6,2	1,9	5,35
12.	815	8,1	0,51	0,16	6,3	1,9	5,35
13.	800	8,2	0,45	0,14	5,5	1,7	5,35
Durchschnittszahl	759	8,2	0,50	0,16	6,1	1,9	5,34
Pat. gebar 16. XII.							
22. XII.	1150	7,4	0,37	0,13	5,0	1,8	5,34
23.	500[1]	6,6	0,36	0,13	5,4	2,0	5,14
24.	1200	14,3	0,63	0,24	4,4	1,7	5,37
Durchschnittszahl	950	9,4	0,45	0,17	4,9	1,8	5,31

[1]) Etwas Harn verloren gegangen.

Nr. 257.

22jährige I gravida. 3. XII. 1913 in der Abteilung für Schwangere aufgenommen. Die objektive Untersuchung bot nichts Besonderes dar. Harn sauer, klar, kein Albumen. Versuche 9. XII. bis 13. XII. Gebar 26. XII. einen ausgetragenen Knaben (3500 — 51). Wochenbett natürlich. 5. I. in die Pflegestiftung versetzt. Versuche wieder 10. I. bis 16. I. 1914.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_H.	Bemerkungen
9. XII.	990	9,4	0,46	0,26	5,0	2,4	5,12	Gewicht 61,6 kg
10.	900	8,4	0,42	0,15	5,1	1,8	5,10	
11.	1165	10,0	0,50	0,19	5,0	1,9	4,96	
12.	1145	9,9	0,50	0,15	5,0	1,5	4,93	
13.	1000	9,8	0,57	0,17	5,8	1,7	4,99	
Durchschnittszahl	1040	9,5	0,49	0,18	5,2	1,8	5,02	
Pat. geb. 26. XII.								
11. I.	640	9,9	0,45	0,13	4,5	1,3	4,87	Gewicht 53,1 kg.
12.	660	9,8	0,41	0,13	4,6	1,3	4,81	
13.	980	9,6	0,45	0,13	4,7	1,3	4,82	
14.	900	8,8	0,46	0,13	5,2	1,5	4,83	
15.	1150	9,8	0,44	0,15	4,4	1,5	4,92	
16.	900	9,4	0,39	0,13	4,1	1,4	4,75	
Durchschnittszahl	872	9,5	0,44	0,13	4,6	1,4	4,83	

Atmung und Blut.

	Datum	ccm pro kg u. Std.		$\frac{CO_2}{O_2}$	Alv. CO_2 mm berechn.	Hb	p_H. im Blute	
		CO_2	O_2			%	bei mm CO_2	p_H.
vor der Geburt	10. XII.	223	250	0,89	28,1	98	—	—
	12.	205	226	0,91	27,2	100	—	—
nach der Geburt	10. I.	201	215	0,93	36,1	108	43,4	7,40
	12.	197	230	0,86	38,0	—	—	—

Nr. 255.

21jährige I para. 2. XII. in der Abteilung für Schwangere aufgenommen, zeigte hier gar keine krankhaften Symptome. Versuche wurden angestellt vom 16. XII. bis 20. XII. Gebar am 21. XII. in

natürlicher Weise ein ausgetragenes Mädchen (3400 — 50). War im Wochenbett febril mit fötiden Locchien, sonst nichts objektiv Abnormes. Nach der Geburt Versuche vom 28. XII. 1913 bis 5. I. 1914.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_H.	Bemerkungen
16. XII.	1030	10,6	0,48	0,22	4,5	2,1	5,55	Gewicht 64,8 kg.
17.	1950	12,5	0,46	0,22	3,7	1,7	6,01	
18.	1520	9,4	0,48	0,17	5,1	1,8	5,55	
19.	1320	9,7	0,50	0,20	5,1	2,0	5,55	
20.	1550	12,6	0,67	0,22	5,3	1,7	5,29	
Durchschnittszahl	1474	11,0	0,52	0,20	4,7	1,9	5,59	
Pat. gebar 21. XII.								
28. XII.	1750	10,1	1,29	0,21	12,8	2,1	8,04	Gewicht 57,9 kg. Fieber und fötides
31.	2340	12,6	0,80	0,16	6,3	1,3	—	Locchialsekret.
1. I.	1800	13,6	1,26	0,18	9,2	1,3	7,62	Temp. 37,7 abends.
2.	1240	10,4	0,61	0,22	6,1	2,2	6,31	„ 37,0 „
3.	2050	10,6	0,66	0,15	6,3	1,4	6,42	„ normal.
4.	2040	12,2	0,66	0,15	5,4	1,2	5,97	„ „
5.	1520	11,7	0,65	0,12	5,5	1,0	6,22	„ „
Durchschnittszahl	1820	11,5	0,85	0,17	7,4	1,5	6,76	

Atmung und Blut.

	Datum	ccm pro kg und Stunde CO_2	ccm pro kg und Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Alv. CO_2 mm berechn.	Hb %
vor der Geburt	18. XII.	216	239	0,91	30,1	102
	19.	214	229	0,93	29,7	—
nach der Geburt	4. I.	181	209	0,87	39,0	102
	5.	191	214	0,89	40,3	—

Nr. 199.

22jährige I gravida. In der Abteilung für Schwangere aufgenommen. Die objektive Untersuchung bot nichts Besonderes dar. Harn sauer, klar, kein Albumen. Versuche 16. XII. bis 21. XII. Gebar 24. XII.; wegen drohender, intrauteriner Asphyxie fand Expression eines ausgetragenen, scheintoten Knaben statt (3950 — 53), (1 Sutur). Im Wochenbett einen Tag Fieber, sonst natürlich. 12. I. entlassen. Wurde experimenti causa 5. II. wieder in der Pflegestiftung aufgenommen, und es wurden 4. II. bis 13. II. Versuche angestellt. Menses 5. II. bis 8. II.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	$p_{H^{\cdot}}$	Bemerkungen
16. XII.	1050	5,4	0,48	0,16	8,8	2,9	6,83	Gewicht 55,5 kg.
17.	2065	8,5	0,63	0,31	7,4	3,6	7,41	
18.				verloren gegangen				
19.	1900	7,5	0,66	0,27	8,8	3,5	7,55	
20.	1680	7,5	0,54	0,24	7,1	3,1	7,22	
21.	2140	7,9	0,62	0,26	7,7	3,3	7,25	
Durchschnittszahl	1767	7,4	0,58	0,25	8,0	3,3	7,25	
				Pat. gebar 24. XII.				
5. II.	1800	12,5	0,80	0,23	6,3	1,7	6,46	Gewicht 49,0 kg. Menses vorhanden.
9.	1040	11,3	0,82	0,18	7,2	1,6	6,37	Menses hörte auf.
10.	1050	9,4	0,67	0,16	7,1	1,6	6,39	
11.	1050	10,7	0,73	0,15	6,8	1,4	6,32	
12.	1080	9,9	0,65	0,16	6,6	1,6	6,52	
13.	1460	11,8	0,83	0,20	7,0	1,7	6,51	
Durchschnittszahl	1247	10,9	0,75	0,18	6,8	1,6	6,43	

Atmung und Blut.

	Datum	ccm pro kg u. Std. CO_2	ccm pro kg u. Std. O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Alv. CO_2 mm berechn.	Hb %	$p_{H^{\cdot}}$ im Blute bei mm CO_2	$p_{H^{\cdot}}$ im Blute $p_{H^{\cdot}}$
vor der Geburt	16. XII.	225	310	0,73	30,1	94	—	—
	17.	214	265	0,80	28,6	—	—	—
nach der Geburt	4. II.	221	262	0,85	40,9	92	28,0 42,9	7,50 7,42
	6.	231	254	0,91	38,7	—	—	—

Nr. 234.

32 jährige I gravida. Wurde am 21. X. wegen Pyelitis in der Abteilung für Schwangere aufgenommen; bei der Behandlung schwanden hier alle Anfälle, und am 20. XII. war der Harn normal. Versuche wurden angestellt 7. I. bis 11. I. Pat. gebar am 16. I. einen ausgetragenen Knaben (3500 — 54). Die Geburt fand in natürlicher Weise statt; im Wochenbett Aufflammen der Harnwegleiden, weshalb die Versuche unterbrochen wurden.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_H	Bemerkungen
7. I.	2100	10,0	0,63	0,26	6,3	2,6	5,71	Gewicht 67,7 kg.
8.	2600	10,9	0,73	0,30	6,7	2,7	5,96	
9.	2260	10,4	0,60	0,29	5,8	2,7	5,98	
10.	1750[1]	10,4	0,54	0,23	5,2	2,2	5,71	
11.	1550	9,3	0,43	0,22	4,6	2,3	5,87	
Durchschnittszahl	2050	10,2	0,59	0,26	5,7	2,5	5,85	
				Pat. gebar 16. I.				
23. I.	1400	10,6	0,61	0,22	5,6	2,1	5,45	Gewicht 60,6 kg.
24.	1000	8,3	0,52	0,17	6,3	2,1	5,44	Pat. hat eine Cystitis, deswegen wurden die Versuche 25. I. unterbroch.
25.	1240	11,2	0,63	—	5,6	—	5,54	
28.	1300	11,2	0,60	0,14	5,3	1,2	5,50	Urin nat. ohne Albumen.
29.	780	7,1	0,40	0,08	5,6	1,6	5,33	
Durchschnittszahl	1144	9,7	0,55	0,15	5,7	1,6	5,45	

Atmung.

	Datum	ccm pro kg und Stunde		$\frac{CO_2}{O_2}$	Alv. CO_2 mm berechn.
		CO_2	O_2		
vor der Geburt	7. I.	209	235	0,89	27,6
	9.	222	238	0,93	27,0
	11.	230	234	0,98	28,7
nach der Geburt	28.	194	—	—	34,3
	29.	191	—	—	34,2

Nr. 218.

26jährige Polin, II para. Von Mai 1913 starke Hyperemesis, im Kommunehospital bis 30. IX. behandelt, darauf in der Abteilung für Schwangere. Gewicht bei der Aufnahme hier 40,3 kg, da Pat. sich aber fortwährend erbrach und an Gewicht verlor, wurde sie 5. X. in die geburtshilfliche Abteilung A gebracht, wo ein Abortus hervorgerufen werden sollte. Während des Aufenthaltes hier wog Pat. nur 36 kg. Da sie sich an den Tagen unmittelbar nach der Übersiedelung erholte, wurde der Eingriff aufgeschoben. Sie besserte sich jetzt allmählich, nahm an Gewicht zu, wog 22. X. 36,9 kg, 31. XII. 55,4 kg, 7. I., als Versuche eingeleitet

[1]) Etwas Harn verloren gegangen.

wurden, 56,8 kg. Versuche wurden ausgeführt 7. I. bis 9. I., da traten die Geburtswehen ein, und sie gebar 9. I. in natürlicher Weise einen ausgetragenen Knaben (50 — 2750). Im Wochenbett einige Tage hindurch wieder einige Erbrechungen. 20. I. in die Pflegestiftung versetzt, hier Versuche 27. I. bis 1. II. angestellt.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_H	Bemerkungen
7. I.	2050	16,5	0,89	0,33	5,4	2,0	5,86	Gewicht 56,8 kg
8.	2000	15,8	0,92	0,35	5,9	2,2	5,95	
9.	1660	13,1	0,74	0,23	5,6	1,7	5,96	
Durchschnittszahl	1905	15,1	0,85	0,30	5,6	2,0	5,92	
Pat. gebar 9. I.								
27. I.	700	7,3	0,42	0,09	5,7	1,1	5,29	Gewicht 52,0 kg
28.	1240	10,0	0,56	0,14	5,6	1,4	5,08	
29.	1350	11,0	0,43	0,15	3,9	1,4	5,94	
30.	550	5,6	0,27	0,08	4,8	1,4	5,07	
31.	1850	16,1	0,62	0,20	3,9	1,2	5,72	
1. II.	400	5,1	0,21	0,06	4,1	1,2	4,97	
Durchschnittszahl	1015	9,2	0,42	0,12	4,7	1,3	5,35	

Atmung und Blut.

	Datum	ccm pro kg u. Stunde		CO_2/O_2	Alv. CO_2, mm, berechn.	Hb	p_H im Blute	
		CO_2	O_2			%	bei mm CO_2	p_H
vor der Geburt	8. I.	256	264	0,97	31,0	103	40,3 25,4	7,40 7,47
nach d. Geburt	26.	240	259	0,93	42,2	104	43,4 26,0	7,42 7,50
	27.	230	247	0,93	41,4	—	—	—

Nr. 16.

22 jährige I para. Wurde am 19. I. aus der geburtshilflichen Abteilung A, wo sie als in der Geburt begriffen aufgenommen worden war, ohne daß diese Annahme sich späterhin bestätigt hatte, in die Abteilung für Schwangere gebracht. Während des Aufenthaltes in dieser Abteilung fand sich schwaches Albumen im Harn. Versuche vom 18. I. bis 22. I.; während der Zeit kein Albumen im Harn.

Gebar 7. II. ein nicht ausgetragenes Mädchen (48 — 2650). Im Harn war nun kein Albumen, späterhin während des Wochenbettes

Spuren von Albumen im Harn. Das Wochenbett war afebril, und Pat. wurde am 21. II. entlassen. Während der Untersuchung vom 15. II. bis 21. II. Spuren von Albumen im Harn.

Esbach < 0,1 ‰, die Hämoglobinmenge der Pat. betrug nur 71 %.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_H	Defäkation	Bemerkungen
18. I.	640	4,9	0,28	0,16	5,8	3,2	5,22		Gewicht 47,7 kg
19.	1300	5,7	0,28	0,19	4,9	3,4	5,49		
20.	680[1]	6,3	0,29	0,19	4,7	3,0	5,27		
21.	600[1]	7,0	0,31	0,17	4,5	2,5	5,12		
22.	1160[1]	8,0	0,35	0,16	4,4	2,0	5,23		
Durchschnittszahl	876	6,4	0,30	0,18	4,8	2,7	5,27		
Pat. gebar 7. II.									
14. II.	1080	10,5	0,52	0,27	4,9	2,5	5,89	0	Gewicht 41,4 kg
15.	700	9,9	0,50	0,21	5,1	2,1	5,30	+	
16.	1000	11,1	0,52	0,25	4,7	2,1	5,91	0	
17.	640	9,7	0,47	0,17	4,8	1,8	5,16	+	
18.	810	6,4	0,31	0,13	4,9	2,0	5,48	wenig	
19.	920	10,6	0,50	0,21	4,6	1,9	5,70	+	
20.	1350	11,9	0,53	0,21	4,4	1,8	6,13	0	
21.	1120	6,7	0,29	0,09	4,3	1,3	5,55	+	
Durchschnittszahl	953	9,6	0,46	0,19	4,7	2,0	5,64		

Atmung und Blut.

	Datum	ccm pro kg u. Stunde		$\frac{CO_2}{O_2}$	Alv. CO_2, mm, berechn.	Hb	p_H im Blute	
		CO_2	O_2			%	bei mm CO_2	p_H
vor der Geburt	19. I.	209	240	0,87	27,7	105	40,1 27,3	7,40 7,49
	21.	230	267	0,86	28,1	—	—	—
nach d. Geburt	21. II.	154	185	0,83	43,5	71	43,9 29,6	7,46 7,54

Nr. 15.

18 jährige II para. Wurde am 14. I. in der Abteilung für Schwangere aufgenommen. Bot hier keine krankhaften Fälle dar. Versuche angestellt vom 19. I. bis 22. I. Gebar am 1. IV. einen ausgetragenen Knaben

[1]) Etwas Harn vorloren gegangen.

(4750 — 55). Wochenbett verlief natürlich; Versuche wiederum vom 8. IV. bis 13. IV.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_H	Bemerkungen
19. I.	1000[1]	8,7	0,54	0,37	6,2	4,2	5,91	Die Diurese variiert zu viel, um zuverlässige Durchschnittswerte zu gestatten.
20.	1030	10,0	0,57	0,49	5,7	4,9	6,45	
21.	1050[1]	9,1	0,60	0,42	6,6	4,6	6,08	
22.	1320[1]	9,5	0,57	0,35	6,0	3,5	5,98	
Pat. gebar 1. IV.								
8. IV.	1170	18,4	0,99	0,33	5,3	1,2	5,73	
11.	980	19,6	1,12	0,34	5,7	1,7	5,56	
12.	360[1]	6,8	0,30	0,08	4,4	1,3	5,64	
13.	480[1]	8,6	0,38	0,16	4,4	1,9	5,83	

Atmung und Blut.

	Datum	ccm pro kg u. Std. CO_2	ccm pro kg u. Std. O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Alv. CO_2, mm berechnet	Alv. CO_2, mm Haldane Ex	Hb %	p_H im Blute bei mm CO_2	p_H im Blute p_H
vor der Geburt	20. I.	187	207	0,90	34,7	—	92	25,3 46,1	7,54 7,41
	22.	205	217	0,95	31,4	—	—	—	—
	23.	198	217	0,91	34,6	—	—	—	—
	25. II.	—	—	—	—	35,2; 36,4; 36,2 (Mittel 35,6)			
	26.	—	—	—	—	36,1; 36,2			
	27.	—	—	—	—	34,4			
	28.	—	—	—	—	34,6			
nach d. Geburt	10. IV.	—	—	—	—	38,8; 38,1; 39,2; 38,5			
	11.	—	—	—	—	39,2; 39,8; 38,1; 41,1			
	12.	—	—	—	—	38,5; 38,9; 40,8; 40,7			
	13.	—	—	—	—	39,4; 39,7; 40,4; 39,6	97	46,8 23,7	7,40 7,55

Nr. 1.

24 jährige I para. Nach Gesuch am 1. I. 1914 in der Abteilung für Schwangere aufgenommen. Die objektive Untersuchung bot nichts Besonderes dar, Harn sauer, kein Albumen. Versuche 2. II bis 6. II. Gebar 6. II. in natürlicher Weise ein ausgetragenes Mädchen (54 — 4050). Im Wochenbett an einem einzelnen Tag 38,1, sonst afebril, 18. II. in die Pflegestiftung entlassen, Versuche wiederum 14. II. bis 20. II.

[1]) Etwas Harn verloren gegangen.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_H	Defäkation	Bemerkungen
3. II.	1930	9,3	0,42	0,23	4,5	2,4	6,07		Gewicht 60,8 kg
4.	1820	9,0	0,44	0,27	4,9	3,0	5,93		
5.	2700	10,8	0,49	0,23	4,5	2,2	6,20		
6.	1330	5,5	0,24	0,19	4,3	3,5	6,23		
Durchschnittszahl	1945	8,7	0,40	0,23	4,6	2,8	6,11		
Pat. gebar 6. II.									
14. II.	1700	15,0	0,76	0,24	5,1	1,6	5,61		Gewicht 54,1 kg, 14. II. Tp. 37,9°, sonst normal.
15.	2200	17,2	0,76	0,21	4,3	1,2	6,14	0	
16.	1830	16,0	0,65	0,16	4,0	1,0	5,37	+	
17.	1860	16,0	0,66	0,21	4,1	1,3	5,47	0	
18.	1130	11,0	0,44	0,13	3,9	1,2	5,28	+	
19.	1050	12,5	0,44	0,13	3,5	1,0	5,46	++	
20.	790	11,7	0,43	0,10	3,6	0,9	5,03	+	
Durchschnittszahl	1509	14,2	0,59	0,17	4,1	1,2	5,48		

Atmung und Blut.

	Datum	ccm pro kg u. Stunde		$\frac{CO_2}{O_2}$	Alv. CO_2, mm, berechn.	Hb	p_H im Blute	
		CO_2	O_2			%	bei mm CO_2	p_H
vor der Geburt	2. II.	220	266	0,83	32,5	103	41,4 25,5	7,39 7,44
	3.	231	268	0,86	32,7	—	—	—
nach d. Geburt	18.	216	245	0,92	41,9	—	—	—
	19.	209	239	0,90	40,2	—	—	—
	20.	233	246	0,95	43,5	102	41,5 27,3	7,43 7,48

Nr. 34.

24 jährige I para. 23. XII. wegen einer Blutung aus einem gesprungenen Varix in der geburtshilflichen Abteilung B aufgenommen; nach einigen Tagen entlassen; später in der Abteilung für Schwangere aufgenommen, hier vollständig gesund. Harn ohne Albumen. Versuche 20. II. bis 28. II. Gebar 15. III. einen ausgetragenen Knaben (53 — 3250). Geburt natürlich nach Pituitrin — im Wochenbett einige Bakteriurie. Wurde am 23. III. als genesen in die Pflegestiftung gebracht, und hier wurden vom 31. I. bis 3. IV. Versuche angestellt.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_H	Defäkation
20. II.	890	10,1	0,59	0,25	5,8	2,5	5,50	+
21.	900	12,2	0,73	0,28	6,0	2,3	5,46	+
22.	1320	12,6	0,71	0,27	5,7	2,1	5,77	0
23.	1240	11,9	0,69	0,24	5,7	2,0	5,59	+
24.	1012	9,4	0,65	0,25	6,9	2,6	5,53	+
25.	1600	12,3	0,78	0,31	6,3	2,5	5,83	+
26.	1300	9,7	0,67	0,26	6.9	2,7	5,91	+
27.	700	8,4	0,48	0,16	5,8	1,9	5,74	+
28.	1140	11,9	0,68	0,24	5,8	2,0	5,60	
Durchschnittszahl	1122	10,9	0,65	0,25	6,1	2,3	5,66	
Pat. gebar 15. III.								
31. III.	1080	13,0	0,65	0,22	4,9	1,7	5,36	+
1. IV.	1140	12,3	0,68	0,16	5,5	1,3	5,07	
2.	1060	10,7	0,52	0,13	4,8	1,2	5,84	+
3.	1100	11,1	0,51	0,16	4,5	1,5	5,81	+
Durchschnittszahl	1095	11,8	0,59	0,17	4,9	1,4	5,52	

Atmung und Blut.

	Datum	Alv. CO_2, mm		Hb	p_H im Blute	
		berechn.	Haldane Ex	%	bei mm CO_2	p_H
vor der Geburt	23. II.	32,7	—	—	—	—
	24.	—	34,9	—	—	—
	25.	—	**34,1; 34,8**	100	42,8 25,9	7,40 7,45
	26.	—	35,9; 35,8	—	—	—
	27.	—	34,2	—	—	—
nach d. Geburt	31. III.	—	44,5; 44,2; 43,7; 42,0	—	—	—
	1. IV.	—	42,0; 44,9; 43,6; 42,5	—	—	—
	2.	—	**40,4; 40,8; 42,8; 43,8**	108	42,9 29,3	? 7,46
	3.	—	42,1; 44,8; 40,9; 40,4	—	—	—

Nr. 13.

22 jährige II para. Am 10. I. in der Abteilung für Schwangere aufgenommen, bot hier keine Fälle dar, Harn sauer, kein Albumen. Versuche 25. II. bis 4. III. Gebar einen ausgetragenen Knaben (51 — 3450). Wochenbett natürlich. Versuche wieder 25. III. bis 29. III.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_H	De-fäkation
25. II.	1270 [1]	12,6	0,73	0,30	5,8	2,4	5,43	+
26.	1500	13,2	0,61	0,25	4,6	1,8	6,21	0
27.	410 [1]	5,0	0,29	0,12	5,8	2,5	5,26	+++
28.	1420	10,5	0,55	0,24	5,3	2,2	5,76	0
1. III.	1420	14,8	0,77	0,40	5,1	2,2	6,01	+
2.	1400	10,5	0,60	0,33	5,7	3,1	5,49	0
3.	1140	12,7	0,72	0,35	5,6	2,7	5,64	+
4.	1500	10,4	0,69	0,24	6,6	2,3	5,72	0
Durchschnittszahl	1256	11,2	0,62	0,28	5,6	2,4	5,69	
			Pat. gebar 17. III.					
25. III.	1430	15,6	0,82	0,23	5,3	1,4	5,21	+
26.	1740	16,9	0,75	0,24	4,5	1,4	5,48	0
27.	1800	11,1	0,62	0,20	5,6	1,8	5,78	+
28.	1710	16,3	0,78	0,15	4,8	1,0	5,57	0
29.	1560	10,9	0,49	0,16	4,5	1,5	5,75	+
Durchschnittszahl	1648	14,2	0,69	0,20	4,9	1,4	5,56	

Nr. 49.

23 jährige II para. 20. II. in der Abteilung für Schwangere aufgenommen. Befand sich hier wohl, Harn ohne Albumen, Umfang des Unterleibes jedoch sehr groß, bei der Aufnahme 106 cm. Versuche 4. III. bis 10. III. Gebar 19. III. Gemelli (46 — 2250 und 48 — 2500). Der erste Zwilling wurde in natürlicher Weise, aber ohne Herzschlag geboren; reichliches Fruchtwasser. Wochenbett febril bis 39,8, nichts objektiv Abnormes nachzuweisen. Pat. 20. IV. entlassen, war vom 16. IV. afebril. Versuche 13. IV. bis 20. IV.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_H	De-fäkation	Bemerkungen
4. III.	620	7,9	0,52	0,22	6,6	2,9	5,44	+	
5.	820	8,0	0,59	0,24	7,3	2,9	5,48	+	
6.	810	7,9	0,51	0,23	6,5	2,8	5,46	+	
7.	1000	8,4	0,46	0,18	5,5	2,2	5,66	+	
8.	850	9,0	0,53	0,28	5,8	3,1	5,69	+	
9.	680	9,1	0,46	0,24	5,1	2,7	5,89	0	
10.	600	8,1	0,44	0,21	5,4	2,5	5,59	+	
Durchschnittszahl	769	8,3	0,50	0,23	6,0	2,7	5,60		

Pat. gebar 19. III. Gemelli.

[1]) Etwas Harn verloren gegangen.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-H %	Amino-N %	p_H.	Defäkation	Bemerkungen
13. IV.	2040	12,0	0,65	0,12	5,5	1,0	5,55	0	
14.	1910	11,5	0,74	0,18	6,5	1,5	5,47	+	
15.	2410	9,5	0,62	0,17	6,9	1,8	5,51	+	Fieber
16.	1980	10,0	0,44	0,11	4,4	1,1	5,85	0	Normale
17.	1920	8,4	0,38	0,10	4,5	1,2	6,32	+	Temperatur
18.	1480	8,3	0,32	0,12	3,9	1,4	5,69	+	
19.	1590	8,7	0,33	0,12	3,8	1,4	5,75	0	
20.	2140	9,3	0,43	0,15	4,6	1,6	5,48		
Durchschnittszahl	1936	9,7	0,49	0,13	5,0	1,4	5,70		

Atmung und Blut.

	Datum	Alv. CO_2, mm, Haldane Ex				Hb %	p_H. im Blut: bei mm CO_2	p_H. im Blut: p_H.
vor der Geburt	3. III.	**32,8**	**33,3**	**31,2**	**33,3**	81	37,9 / 23,3	7,40 / 7,49
	4.	31,9	31,0	31,6	29,3	—	—	—
	5.	33,8	32,9	—	—	—	—	—
	6.	34,7	33,7	—	—	—	—	—
nach der Geburt	14. IV.	39,1	40,4	38,6	38,4	—	—	—
	15.	40,4	38,0	38,8	38,7	—	—	—
	16.	**38,5**	**36,8**	**37,8**	**37,6**	90	45,0 / 25,6	7,42 / 7,49
	17.	37,3	37,6	38,7	38,7	—	—	—

Nr. 48.

22jährige II para. 20. II in der Abteilung für Schwangere aufgenommen, hier vollständig gesund. Versuche 6. III. bis 11. III. Gebar 26. IV. in natürlicher Weise ein ausgetragenes Mädchen (52 — 4000). Im Wochenbett am 3. Tag 38,3 und am 4. Tag 38, sonst afebril. 26. IV. entlassen. Versuche 2. V. bis 6. V. Stillte das Kind nicht.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_H.	Bemerkungen
6. III.	1200	11,2	0,86	0,34	7,7	3,0	6,20	
7.	1450	13,3	0,84	0,31	6,3	2,3	6,54	
8.	920	10,8	0,68	0,28	6,3	2,6	6,27	
9.	1000	13,5	0,83	0,32	6,2	2,4	6,19	
10.	1060	12,3	0,85	0,32	7,0	2,6	6,02	
11.	550	7,8	0,56	0,16	7,1	2,0	5,84	
Durchschnittszahl	1038	11,5	0,77	0,29	6,8	2,5	6,18	

Pat. gebar 26. IV.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_H·	Bemerkungen
2. V.	1350	16,5	1,04	0,24	6,3	1,4	5,71	Temperatur 37,9
3.	1575	18,6	1,01	0,24	5,4	1,3	5,81	Stillt nicht
4.	1010	12,8	0,85	0,16	6,6	1,2	5,51	
5.	700	12,0	0,62	0,13	5,2	1,1	5,55	
6.	1200	15,0	0,83	0,19	5,5	1,3	5,82	
7.	1300	15,2	0,75	0,18	4,9	1,2	5,65	
8.	670[1]	6,8	0,35	0,04	5,1	0,6	5,67	
Durchschnittszahl	1115	13,8	0,78	0,17	5,6	1,2	5,67	

Atmung und Blut.

	Datum	Alv. CO_2, mm						Hb	p_H· im Blut	
		Haldane In				Haldane Ex		%	bei mm CO_2	p_H·
vor der Geburt	5. III.	—	—	—	—	31,9	—	—	—	—
	6.	—	—	—	—	30,4	32,1	—	—	—
	7.	28,8	28,7	29,1	29,6	33,2	—	—	—	—
	8.	**29,2**	**27,0**	**27,9**	**26,5**	—	—	94	27,3 43,7	7,45 7,36
	20.	—	—	—	—	—	—	98	28,6 41,9	7,46 7,36
nach der Geburt	5. V.	—	—	—	—	35,1	35,2	—	—	—
	6.	33,5	33,9	35,5	—	—	—	—	—	—
	7.	**33,7**	**33,3**	—	—	—	—	105	26,6 44,2	7,53 7,42
	8.	35,5	—	34,7	—	—	—	—	—	—

Nr. 55.

22jährige I para. 2. III. in der Abteilung für Schwangere aufgenommen, während des Aufenthalts hier vollständig gesund. Versuche 7. III. bis 21. III. Gebar 10. IV. in natürlicher Weise ein ausgetragenes Mädchen (2750 — 51). Wochenbett natürlich, wiederum Versuche 18. IV. bis 23. IV. 23. IV. entlassen.

[1]) Etwas Harn verloren gegangen.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_{H}	Defäkation	Bemerkungen
17. III.	720	6,5	0,28	0,15	4,4	2,3	5,18	+	Gewicht
18.	1000	7,6	0,40	0,19	5,1	2,5	5,25	0	
19.	1240	6,7	0,32	0,22	4,8	3,2	5,50	+	
20.	730 [1]	4,4	0,23	0,15	5,3	3,5	5,17	+	
21.	770	7,6	0,34	0,22	4,5	2,9	5,19	+	
Durchschnittszahl	892	6,5	0,31	0,19	4,8	2,9	5,26		Gewicht
Pat. gebar 10. IV.									
18. IV.	720	9,1	0,37	0,14	4,1	1,5	5,32	+	
19.	600	8,0	0,33	0,11	4,1	1,4	4,98	+	
20.	600	10,5	0,38	0,13	3,7	1,3	4,92	+	
21.	350	5,5	0,25	0,09	4,5	1,5	4,89	+	
22.	600	7,9	0,30	0,04	3,8	1,1	5,19	+	
23.	910 [1]	13,3	0,36	0,10	2,7	0,8	5,00		
Durchschnittszahl	630	9,1	0,33	0,11	3,7	1,2	5,05		

Atmung und Blut.

	Datum	Alv. CO_2, mm, Haldane Ex				Hb %	p_{H} im Blut	
							bei mm CO_2	p_{H}
vor der Geburt	14. III.	32,0	33,1	—	—	—	—	—
	16.	31,2	31,1	—	—	—	—	—
	18.	32,8	33,5	—	—	—	—	—
	19.	**28,9**	**30,5**	**30,6**	**31,2**	101	25,6 42,6	7,43 7,37
nach der Geburt	22. IV.	**38,6**	**38,4**	**37,8**	**38,3**	110	46,0 27,4	7,40 7,50

Nr. 54.

20jährige I para. Am 1. III. in der Abteilung für Schwangere aufgenommen; war hier vollständig gesund. Versuche wurden angestellt 17. III. bis 21. III. Gebar 29. IV. einen ausgetragenen Knaben (53 — 3450). Im Wochenbett am 3. und 5. Tag Temperatursteigerung bis 38,5; sonst nichts Besonderes. Versuche wieder angestellt 8. V. bis 17. V.

[1]) Etwas Harn verloren gegangen.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_H.	Bemerkungen
17. III.	1250	10,7	0,70	0,37	6,5	3,5	5,81	
18.	920	8,7	0,50	0,27	5,7	3,1	5,84	
19.	1800	11,7	0,64	0,42	5,5	3,6	6,10	
20.	800	9,1	0,67	0,27	7,3	3,0	5,53	
21.	1060	12,2	0,78	0,37	6,4	3,0	5,71	
Durchschnittszahl	1166	10,5	0,66	0,34	6,3	3,2	5,80	
Pat. gebar 29. IV.								
8. V.	360	4,3	0,49	0,08	11,1	1,8	7,06	Wochenbett febril
9.	1510	21,4	2,42	0,19	11,3	0,9	7,30	
10. V.	680[1]	11,1	0,63	0,13	5,7	1,2	5,44	Temperatur jetzt normal
11.	910	12,6	0,72	0,20	5,7	1,6	5,23	
12.	550	9,2	0,59	0,13	6,3	1,4	5,19	
13.	930	10,0	0,66	0,14	6,6	1,4	5,16	
14.	1040	10,7	0,59	0,14	5,5	1,3	5,13	
15.	700	9,9	0,50	0,12	5,1	1,2	5,13	
16.	870	11,7	0,52	0,12	4,4	1,0	5,13	
17.	810	13,1	0,54	0,14	4,1	1,1	4,89	
Durchschnittszahl (10. bis 17. V.)	811	11,0	0,59	0,14	5,4	1,3	5,16	

Atmung und Blut.

	Datum	Alv. CO_2, mm, Haldane Ex				Hb %	p_H. im Blut: bei mm CO_2	p_H. im Blut: p_H.
vor der Geburt	14. III.	35,2	35,0	—	—	—	—	—
	16.	35,4	35,2	—	—	—	—	—
	17.	**33,6**	**34,3**	**33,7**	**33,7**	95	26,7 41,3	7,40 7,35
nach der Geburt	16. V.	35,9	35,5	37,9	37,1	—	—	—
	18.	**37,9**	**37,8**	**36,4**	**36,9**	99	43,2 24,3	7,36 7,48

Fälle von Eklampsie.

Nr. I.

34 jährige II para. Aufgenommen 20. I. nach Anzeichen einer drohenden Eklampsie einige Tage hindurch. Hatte einige Stunden nach der Aufnahme einen sehr heftigen, eklamptischen Anfall. Bekam darauf Pantopon 1,5 cg, hatte danach einige Stunden Ruhe, späterhin wiederum Anfälle (Blutdruck 200). Es fand jetzt eine Sectio caesarea vaginalis

[1]) Etwas Harn verloren gegangen.

statt und es wurde ein Mädchen geboren (1700 — 44). Nach der Entbindung keine Anfälle, Blutdruck am folgenden Tag 180. Entlassen 3. II., vollkommen gesund.

Blut.

Datum	$p_{H^{\cdot}}$ im Blut		Hb
	bei mm CO_2	$p_{H^{\cdot}}$	%
21. I.	44,7 24,9	7,36 7,45	103

Nr. II.

21jährige I para. Aufgenommen 24. II. nach 3 eklamptischen Anfällen daheim. Sofort nach der Aufnahme ein Anfall; erhielt gleich Pantopon, später aber wieder 5 Anfälle, Blutdruck 195. Es fand jetzt Entbindung statt, Einschnitt ins Collum. Episiotomie.

Achsenzugzange; dadurch wurde ein ausgetragener, scheintoter Knabe geboren (52 — 3400). Im Wochenbett wieder erneute Anfälle, ca. 10, weshalb Venae sectio 700 ccm und subcutan Salzwasser, danach keine Anfälle; erholte sich langsam von selbst. 14. III. vollständig gesund entlassen.

Blut.

Datum	$p_{H^{\cdot}}$ im Blute		Hb
	bei mm CO_2	$p_{H^{\cdot}}$	%
24. II.	44,3 26,2	7,17 7,24	85

Nr. III.

41jährige I para. Steißlage, langwierige Geburt, keine Prodrome, ein Anfall und im Anschluß daran Entbindung am 1. III.; Episiotomie. Extraktion am Gesäß mit Smellies Haken; totgeborener Knabe 54 — 3800). Im Wochenbett ein Anfall, Blutdruck 150. Esbach 12‰. Entlassen 11. III. 1914, vollständig genesen.

Blut.

Datum	$p_{H^{\cdot}}$ im Blute		Hb
	bei mm CO_2	$p_{H^{\cdot}}$	%
I. III.	41,6	7,22	98,5

Nr. IV.

29jährige I para. 24stündige Geburtswehen, Prodrome ebenso lang. 3 Anfälle daheim vor der Aufnahme, 4 Anfälle unmittelbar nach der Aufnahme 6. IV. Darauf Entbindung, Einschnitt ins Collum, Episio-

tomie, Zangenversuch, Perforation. Extraktion mit der Zange, Cleidotomie, Smellies Haken. Blutdruck 185 gleich nach der Entbindung, später keine Anfälle. Entlassen 1. V. Nephritis paene sanata.

Blut.

Datum	$p_{H^\cdot}$ im Blute		Hb
	bei mm CO_2	$p_{H^\cdot}$	%
6. IV.	44,9 27,7	7,33 7,43	78

Kontrollmaterial.

Gesundes, nicht gravides Mädchen. 23 Jahre.

Blut und Atmung.

Datum	Alv. CO_2, Haldane Ex				$p_{H^\cdot}$ im Blute		Hb
					bei mm CO_2	$p_{H^\cdot}$	%
22. I.	**38,2**	**37,2**	**39,1**	**38,6**	25,9 41,5	7,56 7,44	106

K. A. H., 39 Jahre.

Blut und Atmung.

Datum	Alv. CO_2 mm, Haldane			$p_{H^\cdot}$ im Blute		Hb
	In	Ex	Mittel	bei mm CO_2	$p_{H^\cdot}$	%
24. I.	42,0	43,7	**42,8**	40,6 26,1	7,425 7,535	102

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	$p_{H^\cdot}$	Bemerkungen
24. III.	1240	13,8	0,39	0,35	2,8	2,3	6,37	Gewöhnliche gemischte Kost
25.	1730	12,5	0,51	0,36	4,1	2,9	6,27	
26.	1200	11,3	0,45	0,25	4,0	2,2	5,68	
27.	1290	12,4	0,53	0,29	4,3	2,4	5,60	
28.	960	12,3	0,45	0,24	3,7	1,9	5,56	
29.	990	13,9	0,41	0,32	2,9	2,3	5,93	
Durchschnittszahl	1235	12,7	0,46	0,30	3,6	2,4	5,90	

Blut und Atmung.

Datum	Alv. CO_2 mm, Haldane						$p_{H^{\cdot}}$ im Blute		Hb
	In		Ex		Mittel		bei mm CO_2	$p_{H^{\cdot}}$	%
23. III.	38,6	—	40,8	—	39,7	—	—	—	—
24.	40,0	39,4	41,8	40,5	40,9	40,0	—	—	—
25.	39,5	38,8	40,2	42,0	39,9	40,4	—	—	—
26.	39,2	40,2	39,9	40,5	**39,6**	**40,4**	{44,3 27,6	7,38 7,48}	110,5
27.	40,5	39,8	42,2	41,1	41,4	40,5	—	—	—
28.	39,8	—	40,3	—	40,1	—	—	—	—

K. A. H. Ernährungsversuch.

I. Vegetarische Diät vom 29. III. an.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	$p_{H^{\cdot}}$
30. III.	1275	11,5	0,48	0,25	4,2	2,2	5,68
31.	865	9,7	0,41	0,21	4,2	2,2	5,60
1. IV.	1820	8,0	0,33	0,18	4,1	2,2	6,79
2.	1205	6,1	0,22	0,15	3,6	2,5	6,83
3.	1465	6,6	0,18	0,18	2,7	2,7	6,95
4.	2150	6,8	0,26	0,21	3,8	3,1	6,93
5.	1160	6,9	0,23	0,19	3,4	2,8	6,60
2. IV. bis 5. IV. im Durchschnitt	1495	6,6	0,22	0,18	3,4	2,8	6,83

Blut und Atmung.

Datum	Alv. CO_2 mm, Haldane						$p_{H^{\cdot}}$ im Blute		Hb
	In		Ex		Mittel		bei mm CO_2	$p_{H^{\cdot}}$	%
30. III.	42,5	40,5	43,5	45,1	43,0	42,8	—	—	—
31.	43,1	42,1	43,7	42,9	43,4	42,5	—	—	—
1. IV.	42,5	43,3	43,1	43,2	42,8	43,3	—	—	—
2.	41,8	—	43,3	—	42,6	—	—	—	—
3.	40,3	41,7	44,8	43,2	**42,6**	**42,5**	{42,5 25,5	7,40 7,49}	107
4.	41,3	42,7	43,2	44,2	42,3	43,5	—	—	—

II. Fleischdiät vom 5. IV. an.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_H
6. IV.	980	12,0	0,32	0,32	2,7	2,7	6,22
7.	1110	20,0	0,70	0,35	3,5	1,8	5,54
8.	1180	22,2	0,86	0,34	3,8	1,5	5,35
9.	1110	19,8	0,98	0,27	4,9	1,4	5,31
10.	1100	19,1	1,09	0,40	5,7	2,1	5,07
11.	960	18,0	1,06	0,37	5,9	2,1	5,16
12.	925	18,7	1,06	0,32	5,7	1,2	5,29
9. IV. bis 12. IV. im Durchschnitt	1024	18,9	1,05	0,34	5,5	1,7	5,21

Blut und Atmung.

Datum	Alv. CO_2 mm, Haldane						p_H· im Blute		Hb
	In		Ex		Mittel		bei mm CO_2	p_H·	%
6. IV.	40,2	39,4	42,4	41,5	41,3	40,5	—	—	—
7.	37,8	36,0	40,4	41,7	39,1	38,9	—	—	—
8.	36,6	38,2	39,5	40,8	38,1	39,5	—	—	—
9.	38,3	38,2	40,8	—	39,5	—	—	—	—
10.	39,4	39,3	40,7	40,2	**40,0**	**39,8**	{42,6 26,2	7,39} 7,48}	112
11.	38,8	38,5	42,0	40,9	40,4	39,7	—	—	—

III. Gemischte Kost mit 25 g $NaHCO_3$ vom 15. IV. an.

Harn.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_H·	Bemerkungen
16. IV.	1775	10,7	0,05	0,20	0,5	1,9	8,00	Gewöhnl. gemischte Kost + 25 g Bicarbonat. natric.
17.	2050	11,2	0,02	0,21	0,2	1,9	8,29	
18.	(1300)	8,2	0,08	0,25	1,0	3,0	7,41	Gemischte Kost

Blut und Atmung.

Datum	Alv. CO_2 mm, Haldane						p_H· im Blute		Bemerkungen
	In		Ex		Mittel		bei mm CO_2	p_H·	
16. IV.	47,1	44,0	47,2	46,5	47,1	45,3	—	—	
17.	47,3	44,7	47,7	47,8	**47,5**	**46,3**	{43,0 27,0	7,50} 7,58}	
18.	40,4	40,6	43,9	43,2	**42,1**	**41,9**	{45,6 27,4	7,44} 7,54}	Vom 17. IV. v. M. an kein $NaHCO_3$ mehr

Harn einer gesunden, 28jährigen Frau, L. G.

Datum	Diurese	Total-N	NH_3-N	Amino-N	NH_3-N %	Amino-N %	p_H	Bemerkungen
16. II.	1040	14,9	0,66	0,43	4,4	2,9	5,54	
17.	1000	10,8	0,54	0,27	5,0	2,7	5,46	
18.	700	9,9	0,43	0,32	4,4	3,2	5,74	
19.	630	9,6	0,42	0,31	4,5	3,2	5,33	
20.	580	7,8	0,43	0,31	5,5	3,9	5,38	
21. II.	700	9,8	0,54	0,39	5,5	3,9	5,56	Menses angefangen
22.	750[1]	8,0	0,40	0,24	5,0	3,1	5,41	
23.	700	8,9	0,46	0,26	5,1	3,0	5,50	
24. II.	1030	9,1	0,43	0,31	4,7	3,4	5,99	Menses aufgehört
25.	950	7,2	0,35	0,23	5,0	3,2	5,94	
26.	1000	10,0	0,40	0,26	4,0	2,6	5,72	
27.	600	8,9	0,45	0,24	5,1	2,7	5,40	
28.	730	12,2	0,47	0,31	3,8	2,6	5,62	
1. III.	680	10,8	0,41	0,26	3,7	2,4	5,49	
2.	650	9,6	0,45	0,26	4,7	2,7	5,60	
3.	730	8,0	0,32	0,27	4,0	3,3	6,38	
4.	740	11,8	0,46	0,33	3,9	2,8	5,65	
5.	820	12,3	0,44	0,24	3,6	1,9	5,53	
6.	750	11,3	0,36	0,28	3,2	2,4	5,81	
7.	720	12,6	0,44	0,30	3,5	2,4	5,56	
8.	790	11,0	0,48	0,28	4,4	2,5	5,34	
9.	1110	10,6	0,47	0,29	4,4	2,8	5,48	
10.	600	9,6	0,36	0,26	3,8	2,8	5,73	
11.	870	10,5	0,47	0,31	4,5	3,0	5,28	
12.	830	13,2	0,55	0,44	4,2	3,3	5,92	
13.	1080	10,2	0,55	0,33	5,4	3,2	5,30	
14.	700	11,2	0,52	0,36	4,6	3,2	5,35	
15.	1000	9,7	0,51	0,30	5,3	3,2	5,49	
16.	620	9,5	0,52	0,32	5,5	3,4	5,43	
17.	510	10,1	0,62	0,36	6,2	3,6	5,37	
18. III.	890	11,2	0,50	0,32	4,5	2,8	5,73	Menses angefangen
19.	870	11,0	0,48	0,33	4,4	2,9	5,68	
20. III.	900	11,2	0,40	0,30	3,6	2,7	—	Menses aufgehört
21.	760	7,5	0,42	0,20	5,6	2,7	—	

[1]) ca. 30 ccm Harn verloren gegangen.

Zur experimentellen Physiologie des Höhenklimas. II.[1])

Von

K. A. Hasselbalch und **J. Lindhard.**

(Aus dem Laboratorium des Finseninstituts, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 29. Oktober 1914.)

Mit 11 Figuren im Text.

Die Physiologie des Höhenklimas ist ein trotz aller darauf angewandten Mühe noch sehr unfertiges Kapitel der biologischen Forschung. Wie weit wir von einer gründlichen Einsicht in die physiologischen Wirkungen des Höhenklimas entfernt sind, das leuchtet z. B. aus der Unmöglichkeit hervor, die Heilwirkungen desselben befriedigend zu erklären. Von den vielen Einzelfaktoren, die zusammen das Höhenklima ausmachen, wird gegebenenfalls einmal der eine, dann der andere vermutungsweise als ausschlaggebend in den Vordergrund gestellt.

Daß dem so ist, wird durch die Kompliziertheit des Begriffes „Höhenklima" verständlich. Eine ganze Reihe von klimatischen Faktoren: atmosphärischer Totaldruck, Sauerstoffdruck, Licht, Temperatur, Feuchtigkeit, Bewegung und Ionisierung der Luft u. a. m. sind im Höhenklima in charakteristischer Ausbildung kombiniert[2]). Die Aufklärung der Wirkungen eines so komplizierten Eingriffes wurde bisher hauptsächlich in der Weise versucht, daß man ein in der Natur gesammeltes Beobachtungsmaterial zusammenstellte und analysierte. Ein solcher Forschungsweg ist schwierig und unsicher und sollte überall, wo es möglich ist, von dem direkten Experiment unter den vom Experimentator selbst gewollten Versuchsbedingungen ersetzt werden.

---

[1]) Der erste Teil dieser Arbeit wurde im Skand. Arch. f. Physiol. 25, 1911 unter dem Titel: „Analyse des Höhenklimas in seinen Wirkungen auf die Respiration" veröffentlicht.

[2]) Siehe besonders: Zuntz, Loewy, Müller, Caspari, Höhenklima und Bergwanderungen. 1906.

Im Hochgebirge ist das aber nur in sehr beschränktem Maße möglich. Der einzige bisher durchgeführte Versuch, einen einzelnen klimatischen Faktor, die ultraviolette Strahlung, experimentell zu isolieren, stammt von uns her und datiert aus dem Jahre 1911. Die betreffende Abhandlung: „Analyse des Höhenklimas in seinen Wirkungen auf die Respiration“[1]) ist infolge ihrer Tendenz, die Beobachtung durch das Experiment zu ersetzen, als erster Teil der hier vorliegenden, bei weitem nicht abgeschlossenen Arbeit zu betrachten.

Mit der ultravioletten Strahlung war es im Hochgebirge möglich, einen physiologischen Versuch anzustellen, indem die experimentelle Isolierung dieses klimatischen Faktors durch einfache Maßnahmen durchführbar ist, aber mit den übrigen klimatischen Faktoren ist man übel daran. Für Versuche sorgt nur die Natur, und nur der Zufall bestimmt, ob die Wirkungen eines gegebenen Klimafaktors isoliert und während genügend vieler Tage untersucht werden können.

Dazu kommt noch, daß die Erreichung der Höhenstation von dem Tal aus erstens eine gewisse Zeit, zweitens — wo keine Bergbahn zur Verfügung steht — eine gewaltige Muskelarbeit erfordert. Diese beiden Umstände aber stellen sich dem Studium der sehr interessanten Anpassungsprozesse des Organismus hindernd entgegen.

Die Durchführung unseres Plans, eine physiologische Analyse des Höhenklimas zu liefern, erforderte demnach zwingend die Einrichtung eines pneumatischen Kabinetts, wo die zu untersuchenden Klimafaktoren, vereinzelt und kombiniert, dosiert werden könnten. Von pneumatischen Kabinetten, womit man stundenlange Versuche dieser Art durchführen kann, gibt es auf der Welt eine ganze Menge — auch hier in Kopenhagen mehrere. Sie sind bekanntlich auch vielfach für derartige Untersuchungen verwertet worden. Hier handelte es sich aber um die Beschaffung von Versuchsbedingungen, die gegebenenfalls wochen-, vielleicht monatelang andauern könnten. Es mußte demnach für ordentliche Schlafeinrichtungen, sowie für das körperliche und seelische Wohlbefinden der auf längere Zeit eingesperrten Versuchspersonen gesorgt werden. Das

[1]) Skand. Arch. f. Physiol. 25, 1911.

Kabinett mußte, außer mit wissenschaftlichen Apparaten, als bequemer Salon für mindestens zwei Personen ausgerüstet, dahinzu noch mit Wasser, W. C., Telephon, gymnastischem Übungsapparat usw. versehen werden.

Kurz, unser Kabinett mußte außer für die Lösung der angedeuteten wissenschaftlichen Fragen, größer und bequemer eingerichtet sein als irgend eine bis jetzt gebaute Luftkammer.

Bei der Konstruktion des Kabinetts[1]) waren wir in der glücklichen Lage, uns in größter Ausdehnung der ausgezeichneten Ratschläge des Herrn Dozenten Dr. Aug. Krogh bedienen zu können. Mehrere der Hilfsapparate, besonders der vorzüglich arbeitende Druckregulator, sind außerdem von Krogh direkt angegeben und in den Werkstätten seines Laboratoriums hergestellt worden.

Beschreibung des Luftkabinetts. Das Kabinett ist ein kreisrundes Zimmer aus 7 mm dicken Stahlplatten mit planem Fußboden und Kuppeldach. Der Diameter beträgt 3,5 m, die Höhe im Zentrum des Gewölbes 3,3 m. Fig. 1, nach einer photographischen Aufnahme hergestellt, zeigt das Äußere, sowie einige Details: nach rechts hinten einen eisernen Behälter, der mit dem Innern des Kabinetts in Verbindung steht und für die Aufnahme von Eis zur etwaigen Abkühlung der Kammerluft bestimmt ist; dann die viereckige Personentür mit zwei Spannrädern für die Schließvorrichtung; in der Mitte die kreisrunde Schleuse zum Transport des Essens und der zu untersuchenden Dejektionen und Luftproben usw.; endlich nach links eine große, viereckige, nur außerhalb der Versuchsperiode abzuschraubende Tür für die verhältnismäßig seltene Ein- und Ausführung sehr großer Apparate. Die Ränder aller erwähnten Öffnungen sind mit 15 mm hohen Kautschukpackungen, gegen welche die Türen gespannt werden, gedichtet. Die beiden kreisrunden Fenster der Schleuse sind mit 12 mm dicken Glasscheiben versehen, die, um die Gefahren eines Zerspringens zu reduzieren, an beiden Seiten mit Celluloid bekleidet sind. Durch

[1]) Das Kabinett ist von der Firma Reck, Kopenhagen, durch Herrn Ingenieur Schlanbusch geliefert worden. Es ist von den beiden Mäzenen des Finsen-Instituts, Herrn Geh. Rat Hagemann und Herrn Konferenzrat Jörgensen, dem Institut geschenkt und daselbst aufgestellt worden.

diese vier Celluloidschichten und die zwei Glasscheiben sieht man vom Kabinett aus die Gesichtszüge einer Person, mit der man sich durch das Telephon unterhält, ganz deutlich. Übrigens ist man während des Aufenthalts in der Kammer auf künstliche Beleuchtung angewiesen; bis zwölf elektrische Glühlampen, rings am Fuße des Kuppeldachs angebracht und hinter Schirmen versteckt, liefern nach Reflexion von dem weiß lackierten Kuppeldach ein angenehmes, mildes Oberlicht.

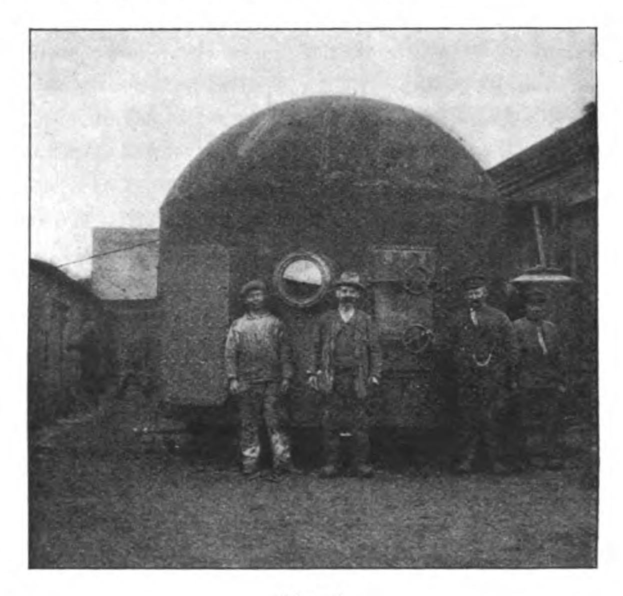


Fig. 1.

Die übrigen Einrichtungen des Kabinetts, die eine Verwendung desselben als gemeinsames Wohn- und Schlafzimmer für zwei Personen gestatten, seien nur kurz erwähnt.

Das Dach und die Wand des Zimmers sind weiß lackiert. Der hölzerne und für die Luftpassage passend durchlöcherte Fußboden ruht auf eisernen Querbalken und ist mit einem dicken rotbraunen Filzteppich bedeckt, wohindurch zugleich die einströmende Luft filtriert wird. Das Zimmer ist mit zwei bequemen Stühlen, einem zusammenklappbaren Arbeits- und Eßtisch und mit Büchergestell versehen. Die Betten sind zusammenschiebbar, sogenannte Kommodenbetten, die am Tage nur wenig Platz nehmen; die Matratzen sind mit Wachstuch

bedeckt, weil sonst der von unten kommende Luftzug bei der niedrigen Lage, nur 30 cm vom Fußboden entfernt, unangenehm wäre. Die Toilettengegenstände befinden sich, in einem einfachen Gestell gesammelt, unter dem Hahn der Wasserleitung. Das Wasserklosett ist wegen der eigentümlichen Druckverhältnisse als eine Art Schleuse eingerichtet, indem es mit einem luftdicht schließenden Bodenventil und einem Deckel, der ebenfalls luftdicht festgeschnallt werden kann, versehen ist. Vor dem Gebrauche wird das Innere des Klosetts durch Öffnen eines Hahnes am Deckel mit der Kammerluft in Druckausgleich gestellt und dann der Deckel geöffnet. Nach dem Gebrauche muß der Deckel erst festgeschnallt werden, bevor die Faeces und das Spülwasser durch Öffnen des Bodenventils hinausbefördert werden können. Ein Vorhang verbirgt die ganze Vorrichtung.

Wenn wir jetzt noch hinzufügen, daß sich sowohl Haustelephon als städtischer Telephonanschluß vorfinden, daß für die Beschaffung von heißem Rasierwasser eine elektrische Heizvorrichtung sorgt, und daß der später zu erwähnende Ergostat, wenn es die Natur der Untersuchung erlaubt, als Übungsapparat benutzt werden kann, so glauben wir, das Wesentliche davon erwähnt zu haben, was für das Wohlbefinden der Versuchspersonen während der „Haft“ getan worden ist.

Verdünnung und Verdichtung der Luft, Ventilierung des Zimmers. Das beigefügte Schema (Fig. 2) erläutert das Prinzip der ganzen Anlage. Die beiden Gaedeschen Kapselpumpen *k* sind im Keller des Hauses aufgestellt und

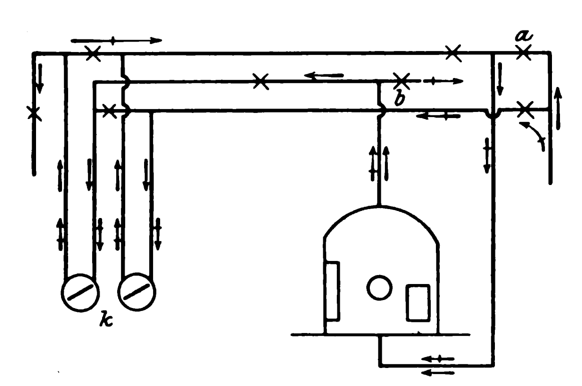


Fig. 2. Schema der Luftleitung.

werden durch einen gemeinschaftlichen elektrischen Motor von 3 PS. getrieben. Die Rotationsrichtung der Pumpen ist immer die gleiche. Das Rohrsystem (lichte Weite 35 mm) ist auf der Fig. 2 durch einfache Linien bezeichnet; die Kreuze bedeuten die verstellbaren Hähne, deren Stellung den Grad des Über- oder des Unterdrucks im Zimmer bestimmt. Soll die Luft durch den knapp geöffneten Hahn *a*[1]) aus dem Zimmer gesaugt werden (Unterdruck), dann folgt der Strom der durch die einfachen Pfeile (Fig. 2) bezeichneten Richtung. Soll dagegen die Luft durch das Zimmer und den knapp geöffneten Hahn *b*[1]) gepreßt werden (Oberdruck), dann ist die Stromrichtung die durch die markierten Pfeile (Fig. 2) bezeichnete. In beiden Fällen strömt die Luft durch den Fußboden des Kabinetts hinein und durch das ungefähr im Zentrum des Kuppeldachs angebrachte Rohr hinaus, und in beiden Fällen ist es bei Betrachtung der Fig. 2 ganz leicht zu ersehen, welche Hähne geöffnet und welche geschlossen werden müssen.

Die Anlage ist für Druckvariationen zwischen 300 und 1200 mm bestimmt. Eine Druckreduktion bis auf 300 mm ermöglicht uns, den auf den höchsten erreichbaren Berggipfeln herrschenden Luftdruck zu reproduzieren, und ein Überdruck bis an 1200 mm wird uns Gelegenheit geben, Kontrollversuche verschiedener Art vorzunehmen.

Die Pumpen befördern zusammen pro Minute ungefähr 1,2 cbm Luft; es ist dabei gleichgültig, ob der Druck im Kabinett 300 oder 1200 mm beträgt. Wenn zwei Versuchspersonen zusammen bei 760 mm Totaldruck pro Minute 400 ccm CO_2 produzieren und wir mit einem Strom von Außenluft (0,04 % CO_2) von nur 1 cbm pro Minute rechnen, so gibt eine derartige Ventilation eine Zimmerluft von 0,08 % CO_2, d. h. die Ventilierung entspricht der in unseren Wohnungsräumen gewöhnlichen. Der von den beiden Versuchspersonen gleichzeitig produzierte Zigarrenrauch wirkt dann auch keineswegs genierend.

D r u c k r e g u l a t i o n u n d S i c h e r h e i t s v e r a n s t a l t u n g e n. Der Ober- oder Unterdruck im Kabinett ist bei ungestörtem Gang des Motors ausschließlich durch die Stellung der betreffenden Hähne bestimmt.

---

[1]) In Wirklichkeit befinden sich hier 3 parallele Hähne.

Obschon nun die Betriebssicherheit eines guten Motors ungeheuer groß ist und die Stellung der Hähne nur durch Verbrechen oder durch einen fast abenteuerlichen Unfall geändert werden kann, haben wir doch folgende, von Krogh angegebene Vorrichtung angebracht, die gleichzeitig als Druckregulator und als Sicherheitsveranstaltung wirkt.

Zwei gleichgroße eiserne Zylinder (q_1 und q_2, Fig. 3), zur Hälfte mit Quecksilber gefüllt, sind mittels eines starken Kautschukschlauches unten verbunden. Der Luftraum über dem Quecksilber in q_1 kommuniziert mit dem offenen Zweige eines Quecksilberbarometers, das den Luftdruck im Kabinette registriert. Auf dem Quecksilber in q_2 liegt ein eiserner Schwimmer, dessen Bewegungen auf einen mit vier Schlitzen versehenen geschliffenen Messinghohlzylinder *m* übertragen werden. Der Zylinder *m* gleitet auf einem ebenfalls geschliffenen und mit vier entsprechenden Schlitzen versehenen, aber in fester Aufstellung befindlichen Hohlzylinder *n*, dessen Inneres durch das weite Rohr *r* mit der zuführenden (bei Unterdruck) bzw. der abführenden (bei Oberdruck) Luftleitung des Kabinetts in Verbindung steht. Der Behälter q_1 wird nun so auf einem Gestell befestigt, daß der Höhenunterschied der beiden Behälter dem gewollten Unter- oder Überdrucke entspricht. Wird nun z. B. in einem Versuch mit Unterdruck der Gang des Motors merkbar langsamer, so steigt der Druck im Kabinett an, die Oberfläche des Quecksilbers in q_2 steigt, und die Schlitze des inneren Zylinders *n* werden durch die Bewegung des äußeren Zylinders *m* mehr verdeckt, so daß jetzt weniger Luft als zuvor durch diese Öffnungen gesaugt wird, der Kammerdruck sinkt, usw.

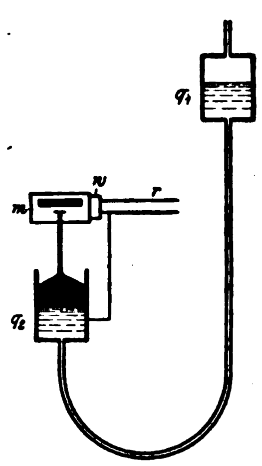


Fig. 3. Druckregulator (schematisiert).

Bei sorgfältiger Einstellung des Regulators von Anfang an arbeitet er tage- und wochenlang mit der größten Präzision. Zwar werden die atmosphärischen Barometerschwankungen von dem Kammerdruck reproduziert; das ist eben eine notwendige Folge des benutzten Prinzips, indem der atmosphärische Druck

auf die Quecksilberoberfläche in q_2 wirkt. Will man den atmosphärischen Barometerschwankungen, die bei der Art unserer Untersuchungen natürlich recht bedeutungslos sind, einigermaßen entgegenwirken, so kann man durch oft wiederholte Einstellungen des Behälters q_1 eine praktisch absolute Konstanz des Kammerdrucks erzielen.

In dem kaum denkbaren Falle, daß die Luftzufuhr durch die Hauptleitung (s. Fig. 2) ganz versagen sollte, würde die Luftversorgung durch den dann maximal geöffneten Regulator ausreichen, um das Leben der Versuchspersonen zu erhalten. Die Möglichkeit, daß der Motor stocken könnte, ist in dieser Beziehung von sehr geringem Belang. Erstens würden die Versuchspersonen sofort das Aufhören des gewöhnten Geräusches bemerken und signalisieren, zweitens ist es die notwendige Folge eines Stockens des Motors, daß in wenigen Minuten der atmosphärische Druck im Kabinett retabliert wird, und da die Größe des Zimmers mehr als 20 cbm beträgt, ist die zur Verfügung stehende Sauerstoffmenge rund 4 cbm, wovon im Laufe von 10 Stunden zwei Versuchspersonen nur $^1/_3$ cbm verbrauchen.

Übrigens werden über Nacht selbstverständlich die Manometer mehrere Male (vier) zu bestimmten Zeiten abgelesen und die Ablesungen notiert. Sollte der Druck um mehr als 10 mm von dem gewollten abweichen, so ist die Nachtwache beordert, den Laboratoriumsdiener zu rufen. Das ist noch niemals vorgekommen.

Eine Personenschleuse, die dem Experimentator die Möglichkeit gewähren würde, ohne Störung der Druckverhältnisse Besuche im Kabinett abzustatten, z. B. um Versuche anzustellen, haben wir bisher nicht als notwendig erachtet, u. a. weil wir vorläufig nur mit geschulten Versuchspersonen arbeiteten. Eine solche Vorrichtung wird eventuell später angebracht werden.

Variation des Sauerstoffdruckes ohne Änderung des Totaldruckes ist bei einer Verwendung des Kabinetts als geschlossene Respirationskammer, mit Absorption der produzierten Kohlensäure und automatischer Zusetzung des verbrauchten Sauerstoffs eine technische Leichtigkeit. Wir haben bisher diese Fähigkeiten der Anlage nicht ausgenutzt.

Licht. Im Zentrum der Kuppel ist in verstellbarer Aufhängung eine Quecksilberquarzlampe (sogenannte „Höhensonne“

von Bach) angebracht. Versuchspersonen von dem hier gewöhnlichen Pigmentierungsgrad bekommen nach einer Exposition in 1 m Abstand und von 10 bis 15 Minuten Dauer ein kräftiges Lichterythem. Die Lampe riecht deutlich nach Ozon und ionisiert die Luft sehr stark. Die Ionisierung kann natürlich auch durch radioaktive Stoffe bewerkstelligt werden.

Temperatur. Für Erwärmung der Kammerluft sorgt ein im Kabinett aufgestellter, von der Zentralheizung aus versorgter kleiner Ofen, dessen Wasserzufuhr durch einen Thermoregulator geregelt wird. Bei der Kühlung der Luft wird der auf Fig. 1 gezeigte große eiserne Eisbehälter (rechts im Hintergrunde) benutzt. Der Behälter steht durch zwei Röhren mit dem Kabinett in Verbindung (s. Schema, Fig. 4). Vor der Öffnung der großen oberen Röhre ist ein elektrischer Ventilator aufgestellt, der die Kammerluft durch das Eis und durch den Fußboden wieder in das Kabinett hinauf treibt. Das Schmelzwasser wird unten im Keller in einem eisernen Behälter gesammelt und zeitweise durch eine Wasserstrahlpumpe von dort entfernt. Beim Einbringen von frischem Eis müssen die Verbindungsröhren zwischen dem Behälter und dem Kabinett zeitweise geschlossen werden.

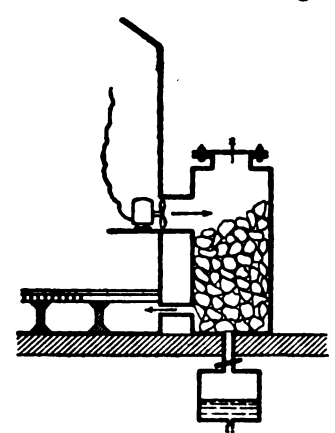


Fig. 4. Kühlung der Luft (Schema).

Versuche bei niedriger Temperatur sind am einfachsten im Winter vorzunehmen. Im Sommer kann die Kühlung der Kammerluft mitunter notwendig werden, besonders wenn plötzlich während eines Versuches eine starke Wärme einsetzt und der Versuch eine annähernd konstante Temperatur erfordert.

Feuchtigkeit der Luft. Um eine sehr trockne Luft zu erzeugen, saugt man den eingehenden Luftstrom schon am Anfang der Luftleitung erst durch Eisstückchen, in einem Eiskasten angebracht. Die spätere Verdünnung (in Versuchen mit Unterdruck) und die eventuelle Erwärmung drücken die relative Feuchtigkeit der Luft mehr oder weniger stark herab.

Eine Erhöhung der relativen Feuchtigkeit erzielen wir durch Verdampfung von (elektrisch geheiztem) Wasser im Luftkabinett. Zwischenzustände können durch Kombination der beiden Prozeduren sowie durch eine Mitwirkung der oben beschriebenen Kühlung der Luft im Kabinett selbst erzielt werden.

Eine Variationsbreite zwischen ca. 100% und ca. 20% relativer Feuchtigkeit der Kammerluft ist durch solche Maßnahmen unter allen denkbaren Versuchsbedingungen möglich.

Wissenschaftliche Ausrüstung des Kabinetts. Methodisches. Eine Anzahl Stechkontakte für elektrischen Strom von 220 Volt, sowie einige solche für Strom von niedriger Spannung, 4 und 8 Volt, sind im Kabinette vorhanden. Für die Arbeitsdosierung bedienen wir uns des von Krogh[1]) angegebenen, mit elektrischer Bremse versehenen Fahrrad-Ergometers. Für die Bestimmung des Minutenvolumens des Herzens nach der Stickoxydul-Methode von Krogh und Lindhard[2]) wird die betreffende Apparatur benutzt; hier wird der niedrig gespannte elektrische Strom verwendet. — Auf einem schmalen Tische aufgestellt befindet sich ein Apparat für Luftanalyse (von Krogh modifizierter Haldanescher Apparat), auf einem anderen kleinen Tische der Respirationsapparat. Dieser ist für Versuche von kürzerer Dauer (gewöhnlich ca. 20 Min.) und für die sitzende Stellung bestimmt und ist von dem hier im Laboratorium immer benutzten Typus. Die Maske ist aus Stents-Masse, über dem Gesicht der Versuchsperson sorgfältig modelliert, hergestellt; der Ventilapparat mit Kautschukklappen hat einen möglichst kleinen schädlichen Raum (mit dem der Maske zusammen ca. 75 ccm). Die exspirierte Luft passiert erst eine Flasche von 2 l Rauminhalt, damit sie bei der nachfolgenden automatischen und kontinuierten Probeentnahme (über Quecksilber) gut gemischt sei, und wird dann durch die kalibrierte Gasuhr gemessen. Von der Inspirationsluft wird ebenfalls eine Probe genommen. Die Atemfrequenz wird entweder von der Versuchsperson selbst gezählt, oder durch Aufschreibung der Druckschwankungen im Ventilapparat mittels eines Kymographions registriert. Die Ablesungen der Uhren und der Thermometer werden vom Ex-

[1]) Skand. Arch. f. Physiol. 30, 1913.

[2]) Ebenda 27, 1912.

perimentator gemacht; das Barometer, das nur von außenher ablesbar ist, wird nach dem beendigten Atmungsversuch von einem Assistenten notiert.

Die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration ($C_{H^{\cdot}}$) des Harns wurde außerhalb des Kabinetts mittels der von Hasselbalch[1]) angegebenen und oft beschriebenen Methode vorgenommen. Der Harn des Tages wurde, durch Toluolzusatz vor Zersetzung geschützt, von den Versuchspersonen praktisch ohne Verlust gesammelt.

Die $C_{H^{\cdot}}$-Bestimmungen sowie die meisten der Luftanalysen wurden von der durch vieljährige Übung trainierten Assistentin des Laboratoriums, Frau Dr. I. Maar, ausgeführt.

Die Berechnung der Versuche ist von einem von uns (J. L.) vorgenommen und von dem anderen (K. A. H.) in großer Ausdehnung kontrolliert worden, so daß wir ohne Bedenken die Veröffentlichung der Versuchsprotokolle unterlassen und nur die uns interessierenden Versuchsergebnisse tabellarisch und graphisch wiedergeben.

Die Gründe, die uns dazu bestimmt haben, die alveolaren CO_2-Spannungen durch Berechnung aus den Atmungsversuchen und nur ausnahmsweise mittels der Haldaneschen Methode zu ermitteln, finden sich bei Krogh und Lindhard[2]) angegeben. Die einzige in der Bohrschen Berechnungsformel schwierig zu ermittelnde Größe, die des persönlichen schädlichen Raumes, ist für die 3 Versuchspersonen, die hier in Frage kommen, K. A. H., J. L. und V. M., in gut übereinstimmenden Versuchsserien von Lindhard[3]) bestimmt. Zur Größe des persönlichen schädlichen Raumes (bei 37°) wird dann die (ausgemessene und für 37° umgerechnete) Größe des freien Raumes der Maske und des Raumes des Ventilapparats zwischen den Klappen addiert und die Summe in die Bohrsche Formel eingesetzt. Für K. A. H. ist die herausgekommene Größe des totalen schädlichen Raumes 225 ccm, für J. L. 193 ccm und für V. M. 212 ccm.

---

[1]) Z. B. diese Zeitschr. **49**, 1913.
[2]) Journ. of Physiol. **47**, 1914.
[3]) Journ. of Physiol. (Proc.) **48**, 1914.

Bevor wir auf die Darstellung unserer Versuchsergebnisse übergehen, müssen wir für noch eine durch Berechnung ermittelte Größe Rechenschaft ablegen, nämlich für den „akklimatisierten Wert“ der alveolaren CO_2-Spannung.

Aus früheren Untersuchungen im pneumatischen Kabinette [siehe besonders Ward[1])] wußte man, daß eine Erniedrigung des Sauerstoffdruckes eine allmähliche Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung bewirkt. Die Beobachtungen „im Felde“ haben zwar die gesetzmäßige Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung im Höhenklima gezeigt; daß es sich aber um die gradweise Erreichung eines neuen Gleichgewichtes handelt, davon haben uns erst die Untersuchungen Haldanes mit Douglas, Henderson und Schneider[2]) belehrt. Bei den 4 Versuchspersonen, die mittels Bergbahn in eine Atmosphäre von 460 mm Totaldruck (Pike's Peak, Colorado) gebracht wurden, dauerte es verschieden lange, von 3 bis 14 Tage, bevor die Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung ihre volle Größe erreichte. Gelegentlich derselben Expedition wurde von Mabel Fitzgerald[3]) bei einer großen Anzahl in verschiedenen Höhen dauernd wohnender Personen die alveolare CO_2-Spannung bestimmt, um das Gesetz, wonach bei akklimatisierten Menschen die Spannung der Blutkohlensäure mit dem atmosphärischen Totaldruck variiert, abzuleiten.

Für zwei unserer Versuchspersonen, K. A. H. und J. L., liegt ein ausreichendes Material vor, um eine ähnliche Berechnung durchzuführen, und zwar aus dem schon zitierten ersten Teil dieser Arbeit, eine Bergexpedition nach Tirol behandelnd. Diese Bestimmungen sind in der Fig. 5 dazu benutzt worden, die Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung bei fallendem Barometer für die beiden vollständig akklimatisierten Personen graphisch darzustellen. Bei 453 mm ist außerdem für J. L. noch ein Wert angegeben, der dem in einer folgenden Abhandlung[4]) beschriebenen Luftkammerversuch entstammt. Zum Vergleich sind noch einige aus Miß Fitzgeralds Durchschnittszahlen berechnete Werte mitgenommen worden; diese

[1]) Journ. of Physiol. 37, 1908.

[2]) Phil. Transact. Roy. Soc. London, Serie B, 203, 1912.

[3]) Ebenda.

[4]) Diese Zeitschr. 68, 1915.

liegen ein bißchen höher als unsere Bestimmungen, doch nicht mehr, als daß die Ergebnisse sich eher stützen als widersprechen. In Miß **Fitzgeralds** Material bewirkt eine Erniedrigung des Atmosphärendruckes von 100 mm eine Erniedrigung der alveolaren CO_2 von 4,2 mm, bei uns von 3,8 mm; praktisch könnte man ohne Schaden mit 4 mm rechnen, um so mehr, als in den 5 von **Barcroft**[1]) erwähnten Fällen eine Erniedrigung des Luftdrucks von 300 mm die alveolare CO_2 im Durchschnitt um genau 12 mm herabdrückte.

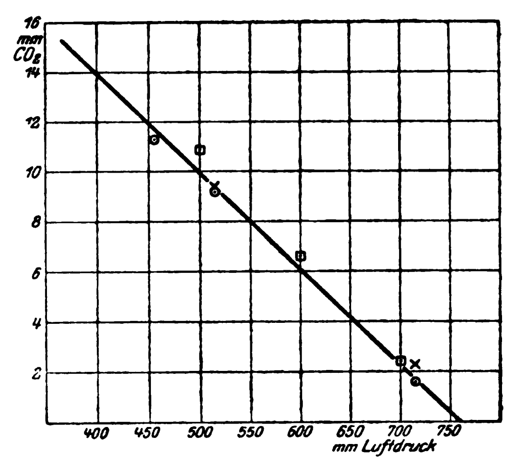


Fig. 5. Erniedrigung der alv. CO_2-Spannung bei fallendem Barometer.
▫——▫ Durchschnittswerte aus M. Fitzgeralds Beobachtungen.
⊙——⊙ J. L.
×——× K. A. H.

Wenn dem so ist, kann man für jeden Luftdruck die entsprechende alveolare CO_2-Spannung einer Versuchsperson nach eingetretener Akklimatisation, den „akklimatisierten Wert“ der alveolaren CO_2, angeben. Man braucht dazu als Ausgangswert die alveolare CO_2 bei bekanntem Luftdruck (gewöhnlich 760 mm) und zieht davon die an der Kurve (Fig. 5) abzulesende „Erniedrigung“ ab.

Diese Berechnung fordert allerdings als grundsätzliche Bedingung, daß inzwischen keine radikale Koständerung oder sonstige Eingriffe, die für sich allein die alveolare CO_2-Spannung ändern könnten, vorgenommen worden sind.

---

[1]) The respiratory function of the blood, S. 251. Cambridge 1914.

Versuchsergebnisse.

In den ersten Versuchsserien (Versuch 1 und 2) haben wir die Reduktion des Totaldruckes (und somit des Sauerstoffdruckes) als alleinigen Eingriff untersucht, weil zu erwarten war, daß hierin die physiologische Hauptwirkung des Höhenklimas besteht. Später (Versuch 3 und 4) ist dann die Möglichkeit, daß Muskelarbeit die Akklimatisation befördere, einer experimentellen Prüfung unterworfen worden.

Versuch 1. 14. III. bis 22. III. 1913. Versuchspersonen: K. A. H. und J. L.

Beschreibung des Versuchs: In das Kabinett 14. III. morgens; Atmosphärendruck (756 mm). Die ersten 24 Stunden relative Feuchtigkeit der Luft rund 55 %. — 15. III. vorm. beginnende Verdünnung der Luft, um 6 Uhr nachm. Regulation des Druckes bei 510 mm. — Am 16. III. und 17. III. Druck um 515 mm, relative Feuchtigkeit um 52 %. Während dieser beiden Tage deutliche Symptome von Bergkrankheit (s. Tabelle), besonders bei K. A. H., dessen Zustand in den Morgenstunden am 18. III. so unleidlich wurde, daß um 2 Uhr a. m. eine Druckerhöhung beschlossen wurde. Von diesem Zeitpunkt an bis zu Ende des Versuchs war der Druck 585 mm. Die relative Feuchtigkeit war in wiederholten Bestimmungen 50 bis 54 %, im Durchschnitt 52 %. Am 22. III. von 9^{30} a. m. an wieder Normaldruck 754 mm.

Untersucht wurden: Am Morgen im Bette die Pulsfrequenz während 1 Minute. Nach dem Ankleiden (nüchtern, sitzend) in Atmungsversuchen von 20 Minuten Dauer (K. A. H. zuerst, dann J. L.): die Atemfrequenz (Selbstzählung), die Atemtiefe, die alveolare CO_2-Spannung (berechnet), der respiratorische Stoffwechsel und Quotient. Zwischen 11^{30} und 12 Uhr (3 Stunden nach dem ersten Frühstück, sitzend): Minutenvolumen des Herzens. Täglich die Diurese und (bei Zimmertemperatur) der p_H des Tagesharns (von 8 Uhr morgens an gesammelt). Endlich wurden im Laufe des Tages eine Anzahl Bestimmungen der Erregbarkeit des Atemzentrums gemacht; die Behandlung dieser Versuchsergebnisse wollen wir aber auf einen späteren Zeitpunkt aufschieben.

Tabelle I.

Person	Datum	Morgens Tp. °C	Morgens Bar.	Puls	Atemfrequ. pro Minute	Atemtiefe (37°) ccm	Alv. CO_2 mm	Pro Min. (0°, 760 mm) CO_2	Pro Min. (0°, 760 mm) O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Min.-Vol. des Herzens, l.	Diurese ccm	p_H des Harns	Bemerkungen
K. A. H.	14.	—	756	—	—	—	—	—	—	—	7,5	—	—	
	15.	19,0	750	72	7,7	908	38,5	228	279,5	0,82	—	870	5,81	Druckerniedrigung. Kopfschmerzen.
	16.	19,0	522	73	8,4	882	35,0	218	294	0,74	—	995	5,54	Beinahe schlaflos. Kopfschmerzen. Recht starke Cyanose. Präcordialschmerzen.
	17.	19,0	514	78	8,35	877	35,0	216,5	300	0,72	11,6	628	5,54	Zustand derselbe. Übelkeit. Starke Depression. Unleidl. Kopfschmerzen.
	18.	18,7	584	64	8,3	850	35,2	209	288	0,73	9,0	650	6,54	Nachts vorher sehr starke Präcordialschmerzen.
	19.	18,9	584	54	7,7	863	36,1	200	256	0,78	10,6	582	5,53	Angst. Erstickungsgefühl. Erhöhung des Druckes.
	20.	19,0	576	67	7,5	932	34,2	207	262	0,79	9,1	590	5,64	Seit der Druckerhöhung Wohlbefinden und guter Schlaf. Am 19. III. nur noch leichte Cyanose.
	21.	19,2	584	66	7,3	954	34,4	206	261	0,79	8,55	859	5,87	
	22.	19,0	589	66	8,2	827	36,0	203	248	0,82	8,0 [1])	970	5,54	[1]) Bar. 754 mm 2 Stunden vorher.
J. L.	15.	19,0	750	70	5,35	1028	35,7	180	228	0,79	—	1082	5,85	Druckerniedrigung. Kopfschmerzen.
	16.	19,0	522	80	6,75	899	[33,4]	—	—	—	—	1050	5,44	Kopfschmerzen. Leichte Cyanose der Lippen.
	17.	19,0	514	82	7,25	901	31,7	184	236,5	0,78	4,2	875	5,96	Beinahe schlaflos. Weniger Kopfschmerzen.
	18.	18,7	584	74	6,8	865	34,8	181	239	0,76	—	660	5,88	Nachts vorher um 2 Uhr: Druckaufgang.
	19.	19,0	584	64	6,65	949	30,8	174	219	0,79	4,0	1030	5,57	Wohlbefinden. Leidlicher Schlaf.
	20.	19,0	576	75	7,45	889	30,3	179	225	0,80	4,4	1034	5,36	
	21.	19,2	584	69	6,5	976	32,5	186	234	0,80	4,6	890	5,64	
	22.	19,0	589	67	5,55	1098	32,2	185	224	0,83	5,2 [2])	1500	5,67	[2]) Bar. 754 mm 2 Stunden vorher.

In der Tabelle I finden sich die wichtigsten Zahlenergebnisse aus diesem unseren ersten Luftkammerversuch zusammengestellt. Leider sind wegen der ungewohnten Arbeitsverhältnisse einige Bestimmungen des Minutenvolumens des Herzens verunglückt, wie auch die Luftproben aus dem Respirationsversuch mit J. L. am 16. III. Der eingeklammerte Wert der alveolaren CO_2 für diesen Tag ist demnach nicht nach der gewöhnlichen Formel berechnet; er ist auf folgende Weise entstanden:

Während der Atmungsversuche wurden aus der Maske in der im ersten Teil dieser Arbeit[1]) beschriebenen Weise eine Anzahl Proben aus den letzten Portionen der Exspirationsluft herausgesaugt und zusammen analysiert. Wie in der zitierten Arbeit gezeigt wurde, bekommt man auf diese Weise eine Probe der Alveolenluft am Ende der Exspiration,

[1]) l. c. S. 371.

der also von größerer CO_2-Spannung ist als der nach Bohr berechnete Wert, der die mittlere Zusammensetzung der Bifurcaturluft angibt. An den 7 Tagen, wo wir bei J. L. (Versuch 1) über beide Bestimmungen verfügen, sind diese „direkten" Werte alle höher als die berechneten, nämlich 2,2; 2,8; 2,6; 3,4; 1,9; 1,6; 1,5 mm, im Durchschnitt 2,6 mm. Weil der „direkte" Wert am 16. III. 36,0 mm betrug, sind davon 2,6 mm abgezogen worden und auf diese Weise ist der Wert 33,4 mm entstanden.

Übrigens ist zu der Tabelle I zu bemerken, daß die Minutenvolumina des Herzens einen späteren Zeitpunkt des Tages (s. o. S. 278) betreffen als die übrigen Zahlenergebnisse. Die Diurese und der p_H im Harn entsprechen den dem Morgenversuche vorangehenden 24 Stunden.

Aus den kurzgefaßten „Bemerkungen" der Tabelle I geht kaum so schlagend wie aus den Notizen unserer Versuchsprotokolle hervor, wie stark und typisch ausgeprägt das Bild der Bergkrankheit sich bei K. A. H. gestaltete. Bei J. L. fanden sich wohl Schlaflosigkeit und Kopfschmerzen mit leichter Zyanose, bei K. A. H. aber waren diese Erscheinungen viel stärker ausgebildet, und dazu kamen noch der Appetitmangel, die besonders nach Bewegungen fast unaushaltbaren Herzschmerzen und die Energielosigkeit mit melancholischer Verstimmung, und endlich noch in der Nacht vom 17. III. zum 18. III. ein Anfall von Angst mit Erstickungsgefühl, der uns zu der Einstellung auf ein höheres Druckniveau bewog. Nach dieser Erhöhung des Luftdruckes waren sozusagen mit einem Schlage die Erscheinungen der Bergkrankheit vorüber.

Es verdient hier bemerkt zu werden, daß während der Atmung CO_2-reicher Luft (ca. 7 %) die meisten der Bergkrankheitssymptome, besonders die Kopfschmerzen, vorübergehend nachließen.

Daß bei K. A. H. eine Druckreduktion bis auf kaum 510 mm bei dieser Gelegenheit eine so ernste Bergkrankheit auslöste, war nicht erwartet. In den Hochgebirgen hat sich diese Versuchsperson recht oft bei sogar niedrigerem Totaldrucke eines unbedingten Wohlbefindens erfreut, und so auch bei dem oft erwähnten 17 tägigen Aufenthalt bei eben diesem Luftdruck[1]). Bei jener Gelegenheit war dagegen J. L., obschon nur andeutungsweise, bergkrank. Wir kommen später auf diese Verhältnisse zurück.

---

[1]) Hasselbalch u. Lindhard, Skand. Arch. f. Physiol. 25, 388, 1911.

Bezüglich der Pulsfrequenz besagt die Tabelle I, daß bei beiden Versuchspersonen die anfängliche große Druckreduktion bis ca. 515 mm den Puls beschleunigt hat; der Druckanstieg bis 584 mm bewirkt eine deutliche Herabsetzung der Pulsfrequenz, die besonders am 19. III. für K. A. H. zu einem subnormalen Wert führt. Später erreicht der Puls seine normale Frequenz wieder, so daß der niedrige Luftdruck an und für sich ohne Einfluß zu sein scheint, dagegen sind die Druckänderungen von Pulsreaktionen begleitet, die im Laufe von Tagen zurückgehen. Dieser Befund deckt sich mit dem im Hochgebirge für dieselben Versuchspersonen[1]) festgestellten genau.

Die Zahlen von Atemfrequenz und Atemtiefe sind nicht für sichere Schlüsse verwertbar.

Der respiratorische Stoffwechsel ist bei J. L. praktisch unverändert. Bei K. A. H. ist während der Krankheitstage der Sauerstoffverbrauch unzweifelhaft erhöht, was sehr wohl mit den schlaflosen Nächten und dem ruhelosen Zustande dieser Periode übereinstimmt. Der respiratorische Quotient geht bei K. A. H. (andeutungsweise bei J. L.) während dieser Tage herab, um sich später stufenweise zu erheben. Von einer Fähigkeit des Sauerstoffmangels an und für sich, den Stoffwechsel zu erhöhen, ist nichts zu bemerken (siehe auch die späteren Versuche).

Das Minutenvolumen des Herzens ist bei J. L. unverändert. Bei K. A. H. ist eine Erhöhung während der Krankheitstage unzweifelhaft. Wir sind geneigt, auch hier den ruhelosen, qualvollen Allgemeinzustand der Versuchsperson und nicht direkt den Sauerstoffmangel als Erklärung heranzuziehen (siehe auch die späteren Versuche mit K. A. H., J. L. und V. M.).

Die Diuresenzahlen sind nur angeführt, um eine eventuelle Berechnung der pro Tag durch den Harn ausgeschiedenen H-Ionenmenge zu ermöglichen.

Bei der Betrachtung der p_{H}-Zahlen im Harn fällt es auf, daß während der 24 Stunden, wo bei K. A. H. die Bergkrankheit am ausgesprochensten war, ein Harn von

[1]) l. c. S. 387.

wesentlich geringerer Acidität als sonst ausgeschieden wurde. Dasselbe ist, obschon in kleinerem Maßstabe, auch bei J. L. der Fall. Wir möchten vorläufig den Befund nur anführen und die Diskussion darüber bis auf eine spätere Gelegenheit aufschieben.

Was nun endlich die alveolaren CO_2-Spannungen betrifft, so fällt der Umstand sofort in die Augen, daß bei K. A. H. eine Druckreduktion bis auf ca. 515 mm nach 2 Tagen eine Erniedrigung der alveolaren CO_2 von nur 3,5 mm bewirkt hat. Im Hochgebirge[1]) war bei demselben Barometerstand

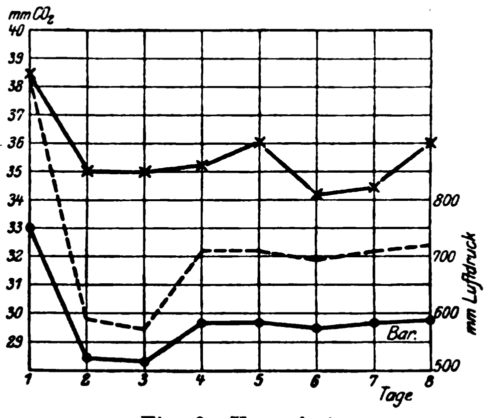


Fig. 6. Versuch 1.
×——× Alv. CO_2 für K. A. H.
----- Akklimatisierte Werte der alv. CO_2.
•——• Luftdruck.

schon am ersten Morgen nach der Ankunft eine Erniedrigung von ca. 10 mm, die sich als bleibend erwies, zu konstatieren. Bei J. L. war in diesem Versuch die Erniedrigung nach 2 Tagen 4 mm, im Hochgebirge am ersten Morgen 6 mm.

Unter der obenerwähnten Voraussetzung (S. 277), daß keine radikale Koständerung stattgefunden hat, was hier absolut nicht der Fall ist, kann man mit Hilfe der Kurve (Fig. 5) die akklimatisierten Werte der alveolaren CO_2-Spannung im Versuch 1 berechnen. Auf den beigegebenen Kurventafeln (Fig. 6 und 7) bezeichnet die punktierte Kurve die akklimatisierten Werte, und der Abstand dieser Kurve von der der fak-

[1]) l. c. S. 383.

tischen alveolaren CO_2-Spannung sollte dann den Grad des Mangels an Akklimatisierung ausdrücken.

Im Lichte der später zu erwähnenden Versuche, wo bei K. A. H. die beiden Kurven sehr schnell zusammenfallen, und wo sich auch keine Bergkrankheit einstellte, erscheint die Annahme berechtigt, daß wir auf diese Weise einen praktischen Ausdruck des Akklimatisationsgrades gewonnen haben. Über den Mechanismus der Akklimatisation ist hiermit natürlich nichts gesagt.

Die Akklimatisierung J. L.s ist im Laufe des Versuchs 1 auch nicht ganz vollbracht worden. Im Hochgebirge[1]) wie

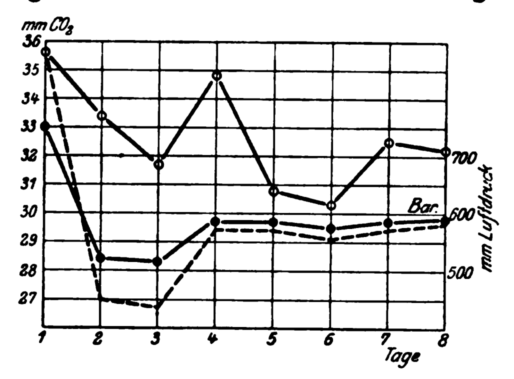


Fig. 7. Versuch 1.
o——o Alv. CO_2 für J. L.
- - - - Akklimatisierte Werte der alv. CO_2.
•——• Luftdruck.

in den folgenden Versuchen mit J. L. ist, sowohl nach den alveolaren CO_2-Spannungen wie nach dem Allgemeinbefinden der Versuchsperson zu urteilen, die Akklimatisation immer eine ganz allmähliche. In dem Umstand, daß nichtsdestoweniger J. L. im Versuch 1 von der Bergkrankheit weniger befallen war als K. A. H., liegt jedoch kein Widerspruch. Eine gegebene Ursache braucht bei verschiedenen Konstitutionen nicht denselben Wirkungsgrad auszulösen.

Versuch 2. 1913, 1. V. 10 Uhr nachmittags bis 8. V. 9 Uhr nachmittags. Versuchspersonen K. A. H. und V. M. (21 Jahre, stud. med.).

[1]) l. c. S. 382 u. 388.

Beschreibung des Versuchs: Der Luftdruck war in den ersten 17 Stunden wegen der Anbringung eines zu klein dimensionierten Luftfilters in der Hauptleitung nur 719 mm, dann, nachdem diese Filtrierung der Luft aufgegeben worden war, 756 mm. Vom 3. V. 3 Uhr nachmittags an beginnende Druckerniedrigung, um 5 Uhr beendigt, Regulation bei 557 mm. Während der folgenden Tage blieb der Luftdruck konstant um ca. 550 mm. Am 8. V. 3 Uhr nachmittags beginnender Druckanstieg, Bar. von $4^1/_2$ Uhr an 764 mm.

Untersucht wurden: Am Morgen nach dem Ankleiden, nüchtern, sitzend, bei K. A. H.: mittlere alveolare CO_2-Spannung nach Haldane, bei V. M. Puls, Atemfrequenz, Atemtiefe, alveolare CO_2 (berechnet), respiratorischer Stoffwechsel und Quotient. Zwischen $11^1/_2$ und 12 Uhr mittags das Minutenvolumen des Herzens beider Personen.

Außerdem wurden noch Bestimmungen der Erregbarkeit des Atemzentrums, sowie des Katalasengehalts des Blutes gemacht, die hier nicht mitgeteilt werden.

Tabelle II.

Person	Datum	Morgens		Puls	Atemfrequ. pro Minute	Atemtiefe (37°) ccm	Alv. CO_2 mm	Pro Min. (0°, 760 mm)		$\frac{CO_2}{O_2}$	Min.-Vol. des Herzens, l.	Bemerkungen
		Tp. °C	Bar.					CO_2	O_2			
K. A. H.	2. V.	20,4	719	—	—	—	39,7	—	—	—	7,55	Recht guter Schlaf.
	3.	20,2	756	—	—	—	38,5	—	—	—	7,3	Guter Schlaf. Druckreduktion.
	4.	19,7	555	—	—	—	34,7	—	—	—	8,6	Leichte, vorübergehende Kopfschmerzen.
	5.	18,0	548	—	—	—	34,2	—	—	—	8,75	Fühlt sich ganz normal.
	6.	14,4	553	—	—	—	33,4	—	—	—	8,85	" " " "
	7.	17,1	554	—	—	—	34,5	—	—	—	—	" " " "
	8.	17,6	553	—	—	—	34,0	—	—	—	9,05	" " " "
V. M.	2.	20,4	719	69	11,75	607	40,4	215	264	0,81	4,75	Guter Schlaf. Wohlbefinden.
	3.	20,2	756	61	11,9	647	(36,1)	209	255	0,82	4,1	Desgl.
	4.	19,7	555	92	12,65	685	36,7	222	266	0,83	5,1	Guter Schlaf. Leichte, vorübergehende Kopfschmerzen.
	5.	18,0	548	81	12,75	654	33,8	215	263	0,82	4,15	Desgl.
	6.	14,4	553	76	14,15	625	33,3	218	266	0,82	5,2	Guter Schlaf. Jetzt vollkommen normales Befinden.
	7.	17,1	554	75	11,55	755	31,6	225	262	0,86	4,1	Kaum so guter Schlaf, sonst normal.
	8.	17,6	553	80	13,05	700	32,1	233	273	0,85	4,8	Guter Schlaf. Fühlt sich ganz wohl.

Die Druckreduktion bis auf ca. 550 mm hat das **Allgemeinbefinden** der beiden Personen kaum merkbar gestört.

Von Cyanose ist keine Rede, der Schlaf bleibt gut, und die leichten, schnell vorübergehenden Kopfschmerzen sind das einzige an Bergkrankheit erinnernde Vorkommnis.

Dabei verhält sich die Pulsfrequenz V. M.s genau so, wie es im Versuch 1 bei K. A. H. und J. L. der Fall war: die Druckreduktion bewirkt eine starke, allmählich zurückgehende Erhöhung der Pulsfrequenz.

Die Atemfrequenz scheint — wenn überhaupt verändert — von der Druckreduktion etwas erhöht zu sein. Ähnliches gilt, jedenfalls während der zwei letzten Tage, von der Atemtiefe V. M.s.

An dem respiratorischen Stoffumsatz hat die Druckreduktion nichts geändert.

Das Minutenvolumen des Herzens ist bei V. M. unverändert; bei K. A. H., der diesmal nicht bergkrank im eigentlichen Sinne des Wortes war, ist trotzdem das Minutenvolumen unzweifelhaft erhöht. (Siehe die folgenden Versuche und die daran geknüpfte Diskussion.)

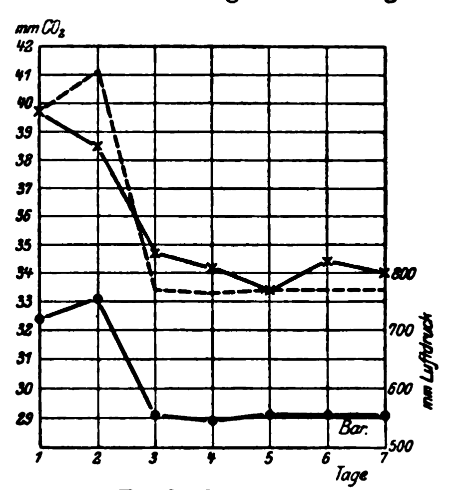


Fig. 8. Versuch 2.

×——× Alv. CO_2 für K. A. H.
- - - - Akklimatisierte Werte der alv. CO_2.
•——• Luftdruck.

Bei der Betrachtung der alveolaren CO_2-Spannungen bei K. A. H. (nach Haldane bestimmt, s. o.) fällt es auf, daß in diesem Versuch die akklimatisierten Werte sehr schnell und recht vollständig erreicht werden (s. Fig. 8). — Die entsprechende Behandlung der Versuchsergebnisse von V. M. hat mit der Schwierigkeit zu kämpfen, daß am zweiten Versuchstag (Bar. 756 mm), der den Ausgangswert der alveolaren CO_2 hätte liefern sollen, eine zweifelsohne ganz abnorme CO_2-Spannung (der eingeklammerte Wert 36,1 mm) berechnet wurde. Aus 8 Atmungsversuchen mit V. M. 3 Monate vorher (Bar. ca.

750 mm) wurde aber eine alveolare CO_2-Spannung von durchschnittlich 39,0 mm (var. 38,0 — 40,4) berechnet; hiermit stimmt der Wert des ersten Versuchstags, 40,4 mm, recht gut überein. Wir haben daher in der beistehenden Fig. 9 für die Berechnung der „akklimatisierten Werte" der alveolaren CO_2-Spannung als Ausgangswert (d. h. alveolare CO_2 bei 760 mm Totaldruck) 39,0 mm CO_2 angenommen, womit kein großer Fehler begangen werden kann. Fig. 9 zeigt, daß die faktischen alveolaren CO_2-Spannungen am 4. und 5. Morgen nach eingetretener Druckreduktion mit den auf diese Weise berechneten akklimatisierten Werten praktisch zusammenfallen.

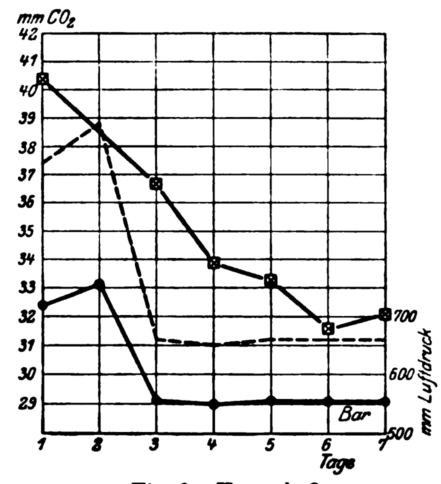


Fig. 9. Versuch 2.

■——▣ Alv. CO_2 für V. M.

---- Akklimatisierte Werte der alv. CO_2.

●——● Luftdruck.

Wir entschlossen uns nun dazu, der rätselhaften Erscheinung der „Akklimatisation" experimentell etwas näher zu treten. Es kam uns vor, daß wir in erster Linie zu untersuchen hatten, ob nicht vielleicht die während einer Bergbesteigung geleistete Arbeit für die schnellere Akklimatisierung wertvoll sein sollte[1]). Es war uns in dieser Beziehung auffallend, daß die obenerwähnte Pike's-Peak-Expedition, die zuerst die stufenweise Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung in großen Meereshöhen gefunden hatte, durch Bergbahn, d. h. ohne eine nennenswerte Arbeit zu leisten, in das Hochgebirge hinauf befördert worden war.

---

[1]) Barcroft spricht (The respiratory function of the blood, S. 264. Cambridge 1914), auf persönliche Erfahrungen gestützt, dieselbe Vermutung aus.

Wir haben, um diese Möglichkeit zu prüfen, mit K. A. H. und J. L. die zwei Versuche 3 und 4 angestellt, wo wir im Versuch 3 der einen, im Versuch 4 der anderen Versuchsperson während der Druckreduktion eine Arbeit von der ungefähren Größe einer Bergbesteigung bis an die dem Luftdruck entsprechende Meereshöhe dosierten.

Eine Vergleichung der beiden Versuche wird uns dann zeigen, ob für die gegebene Versuchsperson die geleistete Arbeit die Akklimatisierung befördert hat oder nicht.

Versuch 3. 1913. 8. VI. 9 Uhr nachm. bis 11. VI. 1 Uhr nachm. Versuchspersonen: K. A. H. (ruhend) und J. L. (arbeitend).

Beschreibung des Versuchs: In das Kabinett um 9 Uhr nachm. am 8. VI., Bar. 756. Anfang der Luftverdünnung am 9. VI. $9^1/_2$ Uhr vorm.; zwei Stunden später Regulation des Drucks bei 553 mm. Während dieser zwei Stunden arbeitete J. L. auf dem Fahrrad-Ergometer erst 52 Min., dann nach 3 Min. Pause, 23 Min., zusammen 75 Min. lang. Zwischen 2^{15} und 4^{25} bei demselben Luftdruck wieder Arbeit während $45 + 45 + 30 = 120$ Min. Von 7 bis 8 Uhr nachm. fortgesetzte Druckreduktion bis auf 496 mm; während dieser Zeit wieder Arbeit $42 + 10 = 52$ Min. Druckregulation bei 497 mm. Die Summe der während der 247 Min. geleisteten Arbeit beträgt 131,500 kg/m (pro Min. 532 kg/m) und ist für die Erhebung J. L.s (Gewicht 66 kg) in die dem Luftdruck entsprechende Meereshöhe (3500 m) zwar nicht ganz ausreichend, aber doch eine ansehnliche Leistung. (Während der ersten Minute nach beendigter Arbeit Pulsfrequenz: 140 bis 150; profuser Schweiß.) Am 10. VI. Luftdruck 497 mm, am 11. VI. 488 mm, von 12 Uhr bis 12 Uhr 30 Min.: Druckanstieg bis ca. 760 mm.

Untersucht wurden: In den Atmungsversuchen morgens, nüchtern, die gewöhnlichen Funktionen. Von $11^1/_2$ bis 12 Uhr mittags, das Minutenvolumen des Herzens. Um 5 Uhr nachmittags ($4^1/_2$ Stunde nach dem 2. Frühstück) bei K. A. H. das Minutenvolumen des Herzens.

Die Versuchsergebnisse, die sich auf der Tabelle III zusammengestellt vorfinden, werden in Verbindung mit den aus dem folgenden Versuch 4 stammenden unten diskutiert.

Tabelle III.

Person	Datum	Morgens		Puls	Atemfrequ. pro Min.	Atemtiefe (37°)	Alv. CO_2	pro Min. (0°, 760 mm)		$\frac{CO_2}{O_2}$	Minutenvolumen des Herzens		Bemerkungen
		Tp. °C	Bar.			ccm	mm	CO_2	O_2		um 12 Uhr	um 5 Uhr	
K. A. H.	9.	18,8	756	58	6,7	853	43,3	204	270	0,76	9,4	8,15	Von 7 Uhr nachm. an (Bar. ca. 500 mm) recht starke Cyanose, leichte Kopfschmerzen.
	10.	17,0	497	61	7,8	863	34,6	194	255	0,76	9,6	10,3	Recht guter Schlaf. Cyanose geringer. Leichte Kopfschmerzen, sonst Wohlbefinden.
	11.	17,3	488	68	7,1	990	33,5	206	267	0,77	9,3	—	Recht guter Schlaf. Cyanose noch wahrnehmbar, Kopfschmerzen ebenso.
J. L.	9.	18,7	756	59	5,1	1018	36,9	175	234	0,75	4,4	—	Schlaf mäßig. Arbeit während der Druckreduktion. Dabei Wohlbefinden. Keine Cyanose.
	10.	17,0	497	85	6,3	1072	30,3	188	274	0,69	7,5	—	Schlaf mäßig. Keine sichere Cyanose. Wohlbefinden.
	11.	17,2	488	77	5,4	1138	33,6	193	261	0,74	5,4	—	Schlaf ganz gut. Geringe vorübergehende Kopfschmerzen.

Versuch 4. 25. XI. 1913, 10 Uhr nachm. bis 27. XI. 10 Uhr nachm. Versuchspersonen: K. A. H. (arbeitend) und J. L. (ruhend).

Beschreibung des Versuchs: Am 25. XI. direkt vor dem Schlafengehen in das Kabinett, Druck 766 mm. Am 26. XI. von $9^1/_2$ Uhr vorm. bis 11 Uhr vorm. Reduktion des Luftdrucks bis auf 556 mm. Während dieser Zeit arbeitete K. A. H. auf dem Ergometer $45 + 45 = 90$ Min. Bei demselben Druck von 2 Uhr nachm. an wieder Arbeit während $45 + 45 = 90$ Min. Zwischen 7 und 8 Uhr nachm. fortgesetzte Druckreduktion bis auf 499 mm, darunter: Arbeit während $30 + 30 = 60$ Min. — Die Summe der während 240 Min. geleisteten Arbeit beträgt 115,500 kg/m (pro Min. 481,5 kg/m) und ist etwas kleiner als die von J. L. im Versuch 3 geleistete Arbeit, aber in Betracht des weniger trainierten Zustandes K. A. H.s wenigstens ebenso anstrengend (während der ersten Minute nach dem Ende der verschiedenen Arbeitsperioden: Pulsfrequenz 150 bis 160; profuser Schweiß). — Am 27. XI. Bar. morgens 505 mm, abends 498 mm. Von 9 Uhr nachm. an: Druckaufgang.

Untersucht wurden: dieselben Funktionen wie im Versuch 3; sowohl am Morgen, nüchtern, wie abends von 8 Uhr an

(3 Stunden nach dem Mittagsmahl) wurden Atmungsversuche gemacht. Ergebnisse siehe Tabelle IV.

Tabelle IV.

Person	Datum, Zeit	Temp. °C	Barometer	Puls	Atemfrequ. pro Min.	Atemtiefe (37°) ccm	Alv. CO_2 mm	pro Min. (0°, 760 mm) CO_2	O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Minutenvolumen des Herzens	Bemerkungen
K. A. H.	26. morg.	19,4	**764**	**61**	**6,8**	**820**	**43,7**	**201**	**261**	**0,77**	7,15	Während der Druckreduktion: Arbeit. Wohlbefinden. Nach der Arbeit ganz leichte Cyanose.
	26. abds.	23,2	499	88	8,5	917	33,7	222	326	0,71	7,75	Befinden: ausgezeichnet. Keine Kopfschmerzen. Abends: keine sichere Cyanose.
	27. morg.	17,5	**505**	**74**	**7,7**	**880**	**34,6**	**200**	**274**	**0,73**	—	Recht guter Schlaf. Ab und zu leichte Kopfschmerz. Keine Cyanose.
	27. abds.	19,4	498	78	7,6	1032	33,8	235	309	0,76	7,0	Wohlbefinden.
J. L.	26. morg.	19,3	**764**	**56**	**5,1**	**991**	**36,9**	**171**	**222**	**0,77**	3,2	Keine sichere Cyanose.
	26. abds.	23,2	499	83	7,2	983	33,5	212	283	0,75	4,3	Leichte, vorübergehende Kopfschmerzen.
	27. morg.	17,2	**505**	**66**	**5,7**	**1055**	**33,8**	**187**	**237**	**0,79**	—	Schlechter Schlaf. Keine Beschwerden. Keine Cyanose.
	27. abds.	19,2	498	85	5,3	1468	31,2	238	303	0,79	4,5	Schläfrig, sonst keine Beschwerden.

Die den Morgenversuchen entstammenden Versuchsdaten sind in der Tabelle IV hervorgehoben worden, um die Vergleichung mit den entsprechenden Größen der Tabelle III zu erleichtern.

Die Versuchsbedingungen, die bei den zwei ersten Versuchen (1 und 2) in der Einführung eines einzigen Faktors, des Sauerstoffmangels, bestanden, sind in den Versuchen 3 und 4 komplizierter geworden, indem hier am ersten Tage die Arbeit hinzugekommen ist. Wir wollen jetzt aus den Tabellen III und IV entnehmen, was wir bezüglich der physiologischen Wirkungen des derart komplizierten Eingriffs folgern können.

Die Pulsfrequenz wird, wie in den vorhergehenden Versuchen, so auch hier, durch die Druckreduktion allein erhöht. Wenn am Tage vorher Arbeit geleistet wurde, ist diese Erhöhung noch ausgesprochener (Nachwirkung der Arbeit).

Die Atemfrequenz und Atemtiefe sind beide während der Druckreduktion mässig erhöht; die am vorangehenden Tage geleistete Arbeit läßt am folgenden Morgen hierin keinen Unterschied erkennen.

Der respiratorische Stoffwechsel wird von der Druckreduktion nicht beeinflußt. Arbeit am vorangehenden Tage vergrößert den morgendlichen Ruhestoffwechsel mehr oder weniger (Nachwirkung).

Der respiratorische Quotient ist ebenfalls von dem unkomplizierten Sauerstoffmangel unbeeinflußt. Arbeit am Tage vorher erniedrigt den Quotienten (Nachwirkung).

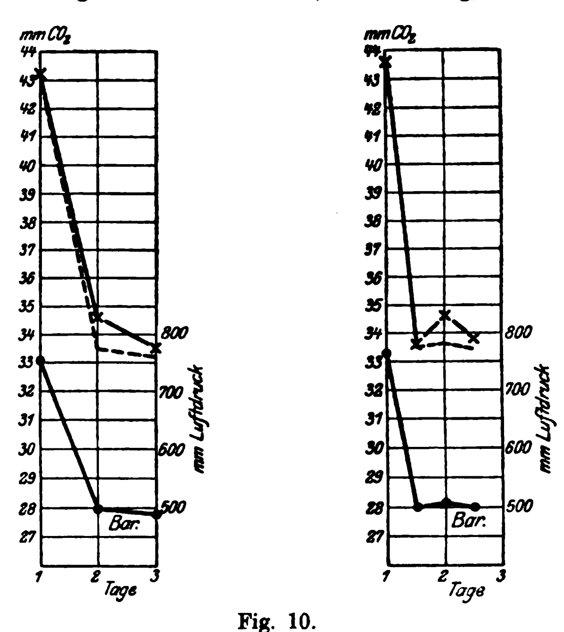


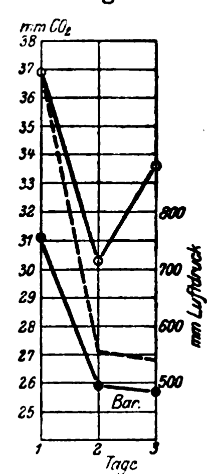
Fig. 10.

Versuch 3.
×—× Alv. CO_2 für K. A. H.
—— Akklimat. Werte der alv. CO_2.
Keine Muskelarbeit.

Versuch 4.
×—× Alv. CO_2 für K. A. H.
—— Akklimat. Werte der alv. CO_2.
Muskelarbeit am ersten Tage.

Das Minutenvolumen des Herzens. Im Versuch 3 finden wir bei K. A. H. (keine Arbeit!) durch die ganze Versuchsreihe dieselben sehr großen Minutenvolumina, um 9,5 l, die wir aus den Bergkrankheitstagen (Versuch 1) kennen, und zwar hier ganz ohne Rücksicht auf den augenblicklichen Totaldruck. Im Versuch 4 (mit Arbeit!) sind die Minutenvolumina K. A. H.s von der für diese Versuchsperson normalen Größe, und auch hier von dem Totaldruck nicht deutlich beeinflußt. — Wenn wir demnach alles über diese Funktion, K. A. H. betreffend, bis jetzt Bekannte zusammenfassen, müssen wir er-

kennen, daß andere Einflüsse als eben Sauerstoffmangel, wahrscheinlich solche nervöser, speziell vasomotorischer Natur, in so überragender Weise die Funktion beherrschen, daß die direkte Bedeutung des Sauerstoffmangels verschwindend klein und jedenfalls unnachweisbar ist. — Was das Minutenvolumen J. L.s betrifft, so ersieht man (Tab. III) die augenscheinliche Wirkung der ca. 30 Minuten vorher geleisteten Muskelarbeit; übrigens fallen die Werte, vielleicht mit Ausnahme des niedrigen Wertes am 26. XI. (Tab. IV), innerhalb



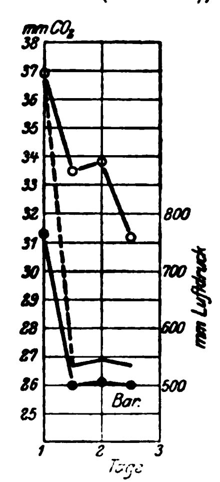


Fig. 11.

Versuch 3.
o—o Alv. CO_2 für J. L.
—— Akklimat. Werte der alv. CO_2.
Muskelarbeit am ersten Tage.

Versuch 4.
o—o Alv. CO_2 für J. L.
—— Akklimat. Werte der alv. CO_2.
Keine Muskelarbeit.

des für J. L. als normal zu betrachtenden Bereiches[1]), d. h. der Sauerstoffmangel ist, auch in Verbindung mit vorangegangener Muskelarbeit, ohne nachweisbare, direkte Bedeutung für das Minutenvolumen des Herzens.

Die alveolaren CO_2-Spannungen endlich (siehe Fig. 10 und Fig. 11) nähern sich bei K. A. H. (im Gegensatz zum Versuch 1 mit der ausgesprochenen Bergkrankheit) sowohl im Ruheversuch 3 als im Arbeitsversuch 4 den akklimatisierten Werten auffallend schnell und stimmen schon am ersten Morgen nach eingetretener Druckreduktion mit diesen praktisch überein.

[1]) Siehe: Lindhard, Skand. Arch. f. Physiol. 30, 91 u. 404, 1913.

Bei J. L. ist, wie gewöhnlich, in beiden Fällen die Akklimatisierung eine langsame; daß im Versuch 3 die alveolare CO_2 am zweiten Versuchstage eine so niedrige ist, muß als eine vorübergehende Nachwirkung der Arbeit aufgefaßt werden, die am dritten Versuchstage abgeklungen ist.

Das Allgemeinbefinden der Versuchspersonen war in den Versuchen 3 und 4 sehr wenig gestört. Wie aus den „Bemerkungen" der Tabellen hervorgeht, war das subjektive Befinden K. A. H.s in dem Arbeitsversuch etwas besser als in dem Ruheversuch, wie auch die Cyanose geringer erschien; überhaupt waren aber diese Unterschiede so geringfügig, daß sie zufälliger Natur sein dürften. Bei J. L. war jedenfalls kein solcher Unterschied vorhanden.

In den beiden Versuchen ist demnach, ganz einerlei, ob am ersten Versuchstag eine große Arbeit geleistet wurde oder nicht, die Akklimatisierung bei K. A. H. sowohl nach dem Allgemeinbefinden als nach der alveolaren CO_2 zu beurteilen, eine schnelle und vollständige. Bei J. L. war die Akklimatisierung in beiden Fällen gleich langsam, so daß auch hier der Versuch unsere Erwartungen nicht bestätigte: die Muskelarbet scheint ohne Einfluß auf die Geschwindigkeit der Akklimatisierung zu sein.

Wenn die alveolare CO_2-Spannung um 10 mm erniedrigt wird, so wird — ceteris paribus — die alveolare O_2-Spannung um ca. 12 mm erhöht. Wenn der Organismus an Sauerstoffarmut leidet, kann eine solche Erhöhung der Sauerstoffspannung im arteriellen Blute von ausschlaggebender Bedeutung sein (s. K. A. H. im Versuch I). Schon hierin liegt die Berechtigung, die Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung bei Luftverdünnung als Indikator für den Anpassungsgrad des Organismus zu behandeln.

Aber auch in einer etwas anderen Beleuchtung betrachtet, bietet das Verhalten der alveolaren CO_2-Spannung im Höhenklima das allergrößte Interesse dar. Wir wissen, daß nicht die CO_2-Spannung, sondern die H-Ionenkonzentration des Blutes die individuelle Konstante ist, die sich unter allen nur einigermaßen physiologischen Verhältnissen behauptet. Sollte der Nachweis einmal gelingen, daß bei dem akklimatisierten Berg-

bewohner die C_H des Blutes genau so groß ist wie bei dem akklimatisierten Bewohner der Ebene, so besitzen wir an der Differenz der alveolaren CO_2 in den beiden Fällen ein Maß für die H-Ionenkonzentration der im Höhenklima extra produzierten fixen Säuren (oder in relativem Überschuß ausgeschiedenen Basen). Bei dieser Sachlage muß angenommen werden, daß ebenso wie bei akklimatisierten Menschen die alveolare CO_2 von dem Luftdruck gesetzmäßig beeinflußt wird, dasselbe für diesen anderen unbekannten Faktor zur Sicherung des H-Ionengleichgewichtes gilt. Und daß dieser unbekannte Regulationsfaktor unmittelbarer als die alveolare CO_2-Spannung von dem Sauerstoffdruck abhängig ist, dafür spricht alle Vermutung.

Bekanntlich haben Barcroft und Mitarbeiter das Sauerstoffbindungsvermögen des Blutes, das ganz überwiegend von der C_H desselben bestimmt wird, als Indicator für diese C_H des Blutes benutzt. Sie sind durch diesen Umweg zu der Anschauung gelangt, daß im Hochgebirge[1]) die fixierte Alkalinität des Blutes erniedrigt ist, daß aber die herabgesetzte CO_2-Spannung die Sache so weit kompensiert, daß die ursprüngliche C_H des Blutes (beinahe) erhalten bleibt.

Es liegt in unserem Versuchsplan, einmal durch direkte, elektrometrische Bestimmungen der C_H des Blutes den Akklimatisierungsprozeß auf Schritt und Tritt zu verfolgen. Vorläufig haben wir aus äußeren Gründen nur einen einzigen, ganz orientierenden Versuch dieser Art angestellt.

Die benutzte Methodik ist eine später aufgegebene Modifikation der Hasselbalchschen Schaukelmethode[2]) und soll hier nicht beschrieben werden; die damit erhaltenen Werte sind mit einem kleinen systematischen Fehler behaftet, sind aber unter sich vergleichbar.

Die „Höhenklimawerte" entstammen dem Luftkammerversuch I, indem am 22. III. in nüchternem Zustande direkt nach dem Atmungsversuch aus den Ohrläppchen der beiden Versuchspersonen Blutproben genommen wurden, die nach der Entlassung, ungefähr $^1/_2$ Stunde später, für die C_H-Bestimmungen verwertet wurden. Die Vergleichswerte sind am 20. II. bzw. 10. II. erhalten. Die Bestimmungen sind bei Zimmertemperatur (18 bis 20° C) vorgenommen.

---

[1]) Journ. of Physiol. (Proc. Physiol.) 46, 1913.

[2]) Siehe z. B. diese Zeitschr. 49, 1913.

$p_{H^{\cdot}}$ des Blutes bei 40 mm CO_2.

		K. A. H.	J. L.
Luftdruck ca.	760 mm . . .	7,51	7,51
"	589 " . . .	7,47	7,44.

Daß dabei in den beiden Fällen die fixierte (d. h. bei gegebener CO_2-Spannung bestimmte) Alkalinität des Blutes herabgesetzt ist, geht aus der obigen Zusammenstellung sehr deutlich hervor. Die vermehrte Lungenventilation, womit der Organismus diese Säuerung des Blutes beantwortet, hat in beiden Fällen eine Erniedrigung der alveolaren CO_2 bewirkt, bei K. A. H. um 4,4 mm (40,4 bis 36,0), bei J. L. um 8,6 mm (40,8 bis 32,2).

$p_{H^{\cdot}}$ des Blutes bei alveolarer CO_2-Spannung.

		K. A. H.	J. L.
Luftdruck ca.	760 mm . . .	7,51	7,50
"	589 " . . .	7,49	7,48.

Der Erfolg dieser vermehrten Lungenventilation ist mit Bezug auf die $C_{H^{\cdot}}$ des Blutes (s. die beistehende Zusammenstellung), daß die ursprüngliche $C_{H^{\cdot}}$ beinahe erhalten worden ist. Das Resultat stimmt demnach mit den Barcroftschen Anschauungen überein.

Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

Zusammenfassung.

Es wird ein für längeren Aufenthalt zweier Personen eingerichtetes pneumatisches Kabinett beschrieben, worin alle bekannten klimatischen Faktoren dosiert und physiologisch untersucht werden können. Das Kabinett wird in der Folge hauptsächlich für die experimentelle Analyse der Höhenklimawirkungen benutzt werden.

Die hauptsächlichsten der schon im voraus bekannten physiologischen Wirkungen des Höhenklimas — die Atmung und den Kreislauf betreffend — sind der Luftverdünnung (der Herabsetzung des O_2-Druckes) allein zu verdanken.

Die Akklimatisierung für den niedrigen O_2-Druck ist ein mehr oder weniger allmählich verlaufender Prozeß. Die Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung kann als Maß für den erreichten Akklimatisierungsgrad benutzt werden.

Muskelarbeit während der Luftverdünnung scheint für die Geschwindigkeit der Akklimatisierung ohne Bedeutung zu sein.

Die Größe des respiratorischen Stoffwechsels wird von der reinen Luftverdünnung nicht beeinflußt.

Zur experimentellen Physiologie des Höhenklimas. III.

Von

K. A. Hasselbalch und J. Lindhard.

(Laboratorium des Finsen-Instituts, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 5. November 1914.)

Mit 1 Figur im Text.

In Fortsetzung unserer früheren Mitteilungen[1]) können wir jetzt von einem 26tägigen Luftkammerversuch berichten, bei dem die Versuchsperson (der eine von uns, J. L.) sich erst 4 Tage lang bei Atmosphärendruck befand, dann im Laufe von 4 Tagen stufenweise auf den reduzierten Luftdruck, 450 mm, gebracht wurde, bei dem er sich nun 14 Tage befand, bis er endlich in einer Nachperiode von 4 Tagen wieder bei Normaldruck untersucht wurde.

Daß ein solcher Versuch, der ja sowohl eine sehr einförmige Lebensweise als eine recht weit getriebene Abgeschlossenheit von der Außenwelt mit sich führt, ohne größere Störungen des Wohlbefindens durchführbar war, das verdanken wir im wesentlichen zwei Umständen. Erstens ist die erwähnte Abgeschlossenheit, dank dem städtischen Telephonanschluß und dem Haustelephon, keine absolute, um so mehr als das Schleusenfenster der Versuchsperson gestattet, die Gesichtszüge derer zu unterscheiden, mit denen sie sich durch das Haustelephon unterhält. Auch die Möglichkeit, täglich die neuesten Zeitungen lesen zu können, bedeutet sehr viel. Zweitens aber war J. L.s Beschäftigung während dieser Zeit für die einsame „Haft“ eigentlich ganz gut geeignet, indem sie in dem Niederschreiben einer größeren literarischen Arbeit bestand. Zwar ist der Sauerstoffmangel bekanntlich kein Beförderer der geistigen Tätigkeit,

---

[1]) Skand. Arch. f. Physiol. **25**, 1911 und diese Zeitschr. **68**, 1915.

besonders nicht, wenn er eine wirkliche Bergkrankheit auslöst. Von experimentellem Gesichtspunkte aus betrachtet ist es aber eine Hauptsache, daß die Versuchsperson sich stets beschäftigt weiß und fühlt, und eine Nebensache, daß die Arbeit nur langsam und schwierig von der Hand geht.

Unser Versuchsplan war wie folgt. Nachdem in einer Vorperiode bei Normaldruck die Ausgangswerte der zu untersuchenden Funktionen fixiert worden waren, sollte zuerst nur der Luftdruck reduziert werden. Wenn die Versuchsperson sich vollkommen akklimatisiert hatte, sollte dazu täglich Muskelarbeit dosiert werden, später außerdem ultraviolettes Licht. Endlich sollten in einer Nachperiode bei Normaldruck die eventuellen Nachwirkungen festgestellt werden.

Die Durchführung dieses Versuchsplans gelang fast vollkommen, doch mit einer, unzweifelhaft unbedeutenden, Ausnahme. Mit dem Luftdruck wurde, teilweise wegen eingetretenen Witterungswechsels, auch die relative Feuchtigkeit der Luft herabgesetzt, von ca. 60% bis auf ca. 40%, so daß also unabsichtlich ein Klimafaktor extra eingeführt worden ist. Hätten wir es der Mühe wert erachtet, könnte selbstverständlich diesem Übelstand abgeholfen worden sein. Von den bei dieser Gelegenheit untersuchten Funktionen kann aber allem Anschein nach nur eine recht unwesentliche, die Diurese, hierdurch beeinflußt worden sein.

Der hauptsächlichste Gegenstand unserer Nachforschungen war der Mechanismus der Akklimatisation an die Sauerstoffarmut der Atmosphäre.

Die niedrige CO_2-Tension des Blutes bei einer O_2-armen Atmosphäre bietet den augenfälligen Vorteil dar, daß durch die ausgiebigere Lungenventilation die O_2-Tension des Blutes gleichzeitig erhöht wird. Die Herabsetzung der alveolaren CO_2-Spannung ist deshalb als ein Ausdruck der stattfindenden Akklimatisierung zu betrachten, und wie wir in der Nr. 2 dieser Mitteilungen zeigten, darf sie zugleich als praktisches Maß des augenblicklichen Akklimatisierungsgrades aufgefaßt werden. Daß aber die O_2-Armut der Atmosphäre in erster Linie die Blutkohlensäurespannung beeinflussen und also hierin das Wesen der Akklimatisierung bestehen sollte, widerspricht aller Erfahrung der Respirationsphysiologen. Dagegen weiß man mit aller Sicherheit, daß die normale „Konstanz der alveolaren CO_2-

Spannung nur ein Produkt konstant erhaltener Versuchsbedingungen ist" [Hasselbalch[1])], daß nämlich ein Extragehalt der Nahrung von Alkalien bzw. Säuren die alveolare CO_2 erhöht bzw. erniedrigt, daß kurzum die physiologische Konstante, die sich (soviel man weiß) unter allen nur einigermaßen normalen Umständen behauptet, nicht die alveolare CO_2, sondern die $C_{H^{\cdot}}$ des Blutes ist.

Solche Tatsachen haben uns dazu bewogen, es zu versuchen, die zugrunde liegenden Stoffwechseländerungen aufzuklären, die in der Folge die Herabsetzung der alveolaren CO_2-Spannung im Höhenklima bewirken.

Dies ist im Prinzip genau dieselbe Aufgabe, die so oft bei der Höhenklimaforschung und bisher vergebens gestellt wurde: die „sauren Stoffwechselprodukte", die als Atmungsirritamente für einen Teil der Kohlensäure vikariieren, aufzufinden. Die alveolare CO_2-Spannung ist im Höhenklima durch die vergrößerte Atmung herabgesetzt. Warum ist aber die Atmung vergrößert? Durch eine Extraproduktion von anderen sauren Stoffwechselprodukten? Durch eine überschüssige Ausscheidung von basischen Bestandteilen des Blutes durch die Nieren? Auf beide Möglichkeiten ist in der bisherigen Höhenklimaforschung vielfach gefahndet worden. Nur die relative Acidose, die durch Herabsetzung der CO_2-Spannung beinahe kompensiert wird, ist als feststehende Tatsache zu betrachten; durch welche Vorrichtungen aber dieser heilbringende Zustand herauskommt, ist unbekannt.

Wir glauben nicht, auf diese in vielen Beziehungen fundamental wichtige Frage die endgültige Antwort geben zu können. Um aber eine vorläufige Orientierung zu erzielen, entschlossen wir uns dazu, gelegentlich dieses Luftkammerversuchs den absoluten und relativen Ammoniakgehalt (und Aminosäurengehalt) des Harns, sowie die aktuelle Reaktion, die $C_{H^{\cdot}}$, desselben zu bestimmen. Die neutralitätsregulierende Rolle des Ammoniaks ist sowohl aus dem Bilde der experimentellen und pathologischen Säurevergiftung als aus der Gravidität[2]) bekannt. Den Aminosäuren kommt zwar (soviel wir wissen) keine solche Bedeutung zu, doch hat die Untersuchung über die Wirkung der reinen Sauerstoffarmut auf diese normalen Bestandteile des

[1]) Diese Zeitschr. **46**, 430, 1912.

[2]) Hasselbalch und Gammeltoft, diese Zeitschr. 68, 1915.

N-Stoffwechsels ein selbständiges Interesse. Die Untersuchung der Harnreaktion sollte die Bestimmung des NH_3-Gehaltes supplieren, indem sie zeigen sollte, ob zwischen den Bewegungen der beiden Funktionen ein Zusammenhang bestehe oder nicht.

Die Lebensweise J. L.s war genau so geregelt wie in den vorigen Versuchsserien. Im Laufe des Tags war er mit der Ausführung der Versuche nur insofern beschäftigt, als er morgens im Bett die Pulsfrequenz zählte, im nackten Zustande sein Körpergewicht feststellte und nach dem Ankleiden, noch nüchtern, den ca. 20 Minuten dauernden Atmungsversuch selbst vornahm. Um $11^1/_2$ Uhr vormittags machte er in der Regel eine Hämoglobinbestimmung. Sonst war er seiner literarischen Beschäftigung überlassen. Am 16. VI. und 17. VI. arbeitete er täglich 85 Minuten (45 Minuten vormittags, 40 Minuten abends) am Ergometer, 18. VI. bis 21. VI. 75 Minuten. Die geleistete Arbeitssumme war die ganze Zeit praktisch konstant, ca. 37000 kg/m pro Tag. Am 22. VI. wurde nur vormittags 40 Minuten lang gearbeitet (20000 kg/m); hiermit hörte die Arbeit auf. Das Lichtbad wurde in einem Abstand von ca. 1 m von der Quecksilberquarzlampe genommen. Zu Anfang wurde nur der Oberkörper, später abwechselnd größere Partien der ganzen Hautoberfläche dem Lichte exponiert. — Der Harn des Tages (von 8 Uhr morgens gerechnet) wurde fast restlos gesammelt und durch Toluolzusatz gegen Zersetzung geschützt.

Bei der Ausführung des Atmungsversuches ist zu bemerken, daß die Versuchsperson, die ja zugleich als Experimentator dienen mußte, erst 2 bis 3 Minuten in den Atmungsapparat hinein atmete, dann die erforderlichen Ablesungen und kleinen Manipulationen vornahm, um endlich mit der Anbringung des Gesichts in der Maske und mit einer natürlichen Exspiration den Versuch anzufangen; in diesem Moment wurde die Stoppuhr in Gang gesetzt und nicht eher beobachtet, bevor der Versuch am Ende einer natürlichen Inspiration mit dem Abheben des Gesichts aus der Maske und mit der Stockung der Uhr abgeschlossen war. Die Atemfrequenz wurde durch ein Kymographion, das schon vor Anfang des Versuchs im Gange war, registriert; ein Blick auf das geschwärzte Papier genügte, um für die Abschließung des Versuchs den passenden Zeitpunkt zu bestimmen, indem die Umlaufzeit des Zylinders ungefähr

22 Minuten betrug. Die Exspirationsluftprobe wurde wie gewöhnlich während der ganzen Versuchszeit genommen; sie wurde ebenso wie die zugleich genommene Inspirationsluftprobe im Laboratorium analysiert.

Methodisches. Die alveolaren CO_2-Spannungen wurden durch Berechnung der morgendlichen Atmungsversuche ermittelt. Die Größe des schädlichen Raumes beträgt 193 ccm. — Die Hämoglobinbestimmungen wurden an Fingerblut und mittels des Autenrieth-Königsbergerschen Apparats (Colorimetrie mittels verschiebbaren Hämatinkeils) gemacht. Der Apparat war schon im voraus geeicht; der Wert 100 entspricht 18,5 Vol.-$^0/_0$ O_2, an Hämoglobin gebunden.

Die Stickstoffbestimmungen im Harne wurden doppelt, nach Kjeldahl gemacht. Die NH_3-Bestimmungen wurden nach der Krüger-Reich-Schittenhelmschen Methode[1]) ausgeführt (Destillation im Vakuum bei 42° C, doch mit methylalkoholischer Bariumhydroxydlösung); im Rückstande wurden die Aminosäuren nach Henriques-Sörensen[2]) bestimmt. Die C_H-Bestimmung geschah auf elektrometrischem Wege nach Hasselbalch[3]) bei 37° C.

In der Tabelle I finden sich die die Atmung, die Pulsfrequenz und den Hämoglobingehalt des Blutes betreffenden Werte, sowie in den „Bemerkungen“ Aufschlüsse über das Körpergewicht und das Allgemeinbefinden der Versuchsperson. Wir wollen jetzt bezüglich der einzelnen Funktionen die Erfolge des dosierten Eingriffes ablesen.

Das Allgemeinbefinden war im großen ganzen befriedigend, das Körpergewicht schwankte nur unwesentlich, der Appetit blieb normal und die Abführung erfolgte täglich zu regelmäßiger Zeit. Die anfängliche Druckreduktion bis auf 552 mm bewirkte nur geringe Kopfschmerzen, die folgende, bis auf 484 mm dagegen eine fast schlaflose Nacht (8. VI. bis 9. VI.) mit gewaltigen Kopfschmerzen und mit Präkordialschmerzen, sowie Dyspnoe und Cyanose. Diese ausgesprochene Bergkrankheit verlor sich aber während der Nacht, und an den folgenden Tagen erinnerten nur die allmählich schwindenden Kopfschmerzen und der etwas minderwertige Nachtschlaf an die Sauerstoffarmut der Atmosphäre. Die schließliche Druckreduktion bis auf 455 mm gab zu einem kleineren, im Laufe von einigen Tagen abklingenden Anfall von Bergkrankheit Anlaß.

[1]) Siehe Abderhaldens Biochem. Arbeitsmethoden 3, 767.
[2]) Ebenda 3, 816.
[3]) Diese Zeitschr. 49, 1913.

Tabelle I.

Atmung, Pulsfrequenz, Hämoglobin.

Datum	Tp. °C	Bar.	Atemfrequenz	Atemtiefe ccm	ccm pro kg u. Std. 0°, 760 mm CO_2	O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	alv. CO_2 mm	Pulsfrequenz	Hämoglobin %	Bemerkungen
3. VI.	17,2	758	5,2	1052	178	232	0,77	36,1	—	113	Gew. 63,22 kg.
4.	17,5	755	6,0	876	165	218	0,75	36,3	56	—	Gew. 63,08 kg.
5.	17,3	750	5,6	944	172	213	0,81	37,3	59	124	Gew. 63,22 kg.
6.	17,8	752	5,8	918	168	214	0,78	37,2	60	118	Gew. 63,44 kg. — Um 8 Uhr nachm. Druckerniedrigung.
7.	17,3	552	6,9	813	166	208	0,80	35,7	66	115	Gew. 63,44 kg. — Geringe vorübergehende Kopfschmerzen.
8.	18,0	552	7,3	771	158	196	0,81	34,4	60	118	Gew. 63,76 kg. — Um 5 Uhr nachm. Druckerniedrigung.
9.	17,9	484	(7,5)[1]	(907)[1]	178	229	0,78	(30,5)[1]	68	121	Gew. 63,08 kg. — Nur 2 Std. Schlaf; in der Nacht Präcordialschm., Dyspnoe, starke Kopfschmerzen. Leichte Cyanose.
10.	18,9	489	7,5	900	175	222	0,79	30,4	65	124	Gew. 63,26 kg. — Schlaf gut, geringe Kopfschm. Keine Cyanose.
11.	19,7	463	7,7	885	169	220	0,77	28,5	70	—	Gew. 63,42 kg. — 2 bis 3 Std. Schlaf. Kopfschmerzen, keine Cyanose (?).
12.	19,7	452	7,8	872	158	210	0,75	27,0	71	134	Gew. 63,46 kg. Schlaf gut, Kopfschm. intensiv, aber vorübergehend.
13.	18,7	461	8,3	889	171	215	0,80	27,4	69	—	Gew. 63,46 kg. — Schlaf mäßig. Geringer Kopfschmerz.
14.	18,6	453	7,2	1015	—	—	—	—	65	130	Gew. 63,80 kg. — Schlaf recht gut, Kopfschm. schwindend.
15.	20,1	452	7,9	980	184	224	0,82	27,4	67	138	Gew. 63,82 kg. — Befinden wie gestern.
16.	20,7	452	8,1	979	184	233	0,79	26,6	70	135	Gew. 63,40 kg. — Schlaf unruhig. Sonst nichts Abnormes. 85 Min. Arbeit.
17.	19,2	455	7,2	1039	181	225	0,80	27,1	71	141	Gew. 62,90 kg. — 3 bis 4 Std. Schlaf. 85 Min. Arbeit.
18.	18,1	453	8,4	938	175	231	0,76	25,4	69	—	Gew. 63,00 kg. — Schlaf recht gut. 75 Min. Arbeit.
19.	18,7	453	7,5	1047	181	236	0,77	25,8	71	136	Gew. 62,90 kg. — Schlaf recht gut. 75 Min. Arbeit. 16 Min. Lichtbad. Am Abend leichtes Erythem.
20.	19,0	454	7,7	1053	185	241	0,77	25,6	72	—	Gew. 62,74 kg. — Schlaf gut. 75 Min. Arbeit. 20 Min. Lichtbad. Am Abend mäßiges Erythem.
21.	18,1	452	6,5	1220	189	247	0,77	25,7	72	141	Gew. 62,70 kg. — Schlaf gut. 75 Min. Arbeit. 12 Min. Lichtbad.
22.	19,8	452	6,7	1142	186	247	0,75	26,5	73	134	Gew. 62,80 kg. — Schlaf gut. Hautkitzel. Recht starkes Erythem am Truncus. 40 Min. Arbeit. 15 Min. Lichtbad.
23.	21,1	448	6,4	1265	182	229	0,79	24,4	70	141	Gew. 63,10 kg. — Schlaf recht gut. Hautkitzel. 15 Min. Lichtbad.
24.	19,8	452	6,2	1158	171	221	0,77	26,2	65	138	Gew. 62,94 kg. — Schlaf gut. Von 9 Uhr vorm. bis 12 Uhr mittags Druckaufgang.
25.	20,7	765	4,6	1281	170	222	0,77	31,2	58	139	Gew. 63,16 kg. — Wohlbefinden. 16 Min. Lichtbad.
26.	19,2	766	4,4	1291	177	218	0,81	33,5	56	138	Gew. 63,22 kg. — 16 Min. Lichtbad.
27.	18,8	769	4,4	1280	176	217	0,81	33,6	59	128	Gew. 63,14 kg. — 16 Min. Lichtbad.
28.	19,5	765	4,6	1196	176	213	0,83	34,9	61	—	Gew. 62,52.

[1]) Atemfrequenz etwas unsicher.

Die Muskelarbeit verbesserte nicht merkbar weder das Allgemeinbefinden noch den Schlaf, dagegen wurde hier wie sonst so oft der Schlaf durch das Lichtbad auffallend gebessert. Obschon nun also seit vielen Tagen der Zustand als ein akklimatisierter bezeichnet werden mußte, wurde doch die Wiederherstellung des Normaldrucks als eine große Behaglichkeit empfunden.

Die vermehrte Alveolarventilation, die in der Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung ihren Ausdruck findet, kommt während der Periode mit dem reduzierten Luftdruck als alleinigem Eingriff dadurch zustande, daß die Atemtiefe praktisch konstant bleibt, während die Frequenz zunimmt.

Durchschnittswert der Tage	Bar.	Frequenz	Atemtiefe
3. VI. bis 6. VI.	754	5,6	946
11. VI. „ 16. VI.	455	7,8	937

Die Arbeit am Tage vorher ändert diesen Atmungsmechanismus nicht merkbar:

Durchschnittswert der Tage	Bar.	Frequenz	Atemtiefe
17. VI. bis 19. VI.	454	7,7	1008

Erst das Lichtbad am Tage vorher bewirkt, sobald das Erythem deutlich ausgesprochen ist, eine unzweifelhafte Erhöhung der Atemtiefe mit entsprechender Frequenzabnahme:

Durchschnittswert der Tage	Bar.	Frequenz	Atemtiefe
21. VI. bis 24. VI.	451	6,4	1196

In der Nachperiode bei Normaldruck bleibt bei der bestehenden Lichtwirkung die Atemtiefe groß, und die Wirkung des Druckaufganges zeigt sich in einer bedeutenden Erniedrigung der Atemfrequenz, die wegen der beiden sich summierenden Ursachen ganz subnormale Werte erreicht:

Durchschnittswert der Tage	Bar.	Frequenz	Atemtiefe
25. VI. bis 28. VI.	766	4,5	1262

Bei Konstanz der Kohlensäureproduktion ist die alveolare CO_2-Spannung ausschließlich durch die Frequenz und die Atemtiefe bestimmt, indem die Alveolarventilation = Frequenz ×

(Atemtiefe ÷ Schädlichen Raum). Die Tabelle besagt demnach, in voller Übereinstimmung mit unseren früheren Befunden, daß die vermehrte Alveolarventilation bei Sauerstoffarmut allein hauptsächlich durch Erhöhung der Frequenz, bei Sauerstoffarmut mit Ultraviolettwirkung kombiniert hauptsächlich durch Vertiefung der Atmung zustande kommt.

Was die Größe des respiratorischen Stoffwechsels betrifft, so können wir uns, besonders weil der respiratorische Quotient durch den ganzen Versuch praktisch unverändert bleibt, mit der Betrachtung des O_2-Verbrauchs begnügen. In der untenstehenden Übersichtstabelle sind die Sauerstoffwerte (pro Kilogramm und Stunde) aus den am besten charakterisierten Versuchsperioden vereinzelt aufgeführt und zu einer Durchschnittsberechnung benutzt worden:

	An den Tagen:			
	3.VI.—6.VI.	25.VI.—28.VI.	11.VI.—16.VI.	17.VI.—22.VI.
Versuchsbedingungen:	—	Lichtbad	—	Arbeit [und Licht[1])]
Bar.:	ca. 760	ca. 760	ca. 455	ca. 455
	232	222	220	225
	218	218	210	231
	213	217	215	236
	214	213	224	241[1])
	—	—	233	247[1])
	—	—	—	247[1])
Im Durchschnitt	**219**	**218**	**220**	**238**

Hieraus geht mit aller Prägnanz hervor, daß die Größe des O_2-Verbrauchs von der O_2-Armut ganz unbeeinflußt ist. Dieser Befund stimmt mit den Schlußfolgerungen unserer früheren Luftkammerversuche, dagegen nicht mit den meisten Beobachtungen im Hochgebirge (auch nicht mit den unsrigen) überein. Hier zeigt sich auf das Schönste die Überlegenheit der experimentellen Untersuchungsmethode gegenüber der beobachtenden. Nur die Pike's-Peak-Expedition[1]), die auf der Bergbahn ins Hochgebirge gebracht wurde, gibt annäherungsweise

[1]) Haldane, Douglas, Henderson, Schneider, Phil. Transact. Roy. Soc. London. Serie B, 203, 1912.

dasselbe Resultat (ccm O_2 pro Minute, Pike's-Peak: 248, Oxford 237), sonst wurde bei der Höhenklimaforschung immer eine bedeutende Steigerung des Ruhestoffwechsels im Hochgebirge gefunden. Daß diese Steigerung auf einer Nachwirkung der besonders bei O_2-Armut anstrengenden Arbeit beruhen kann, das geht mit aller Schärfe aus der obigen Tabelle hervor: Bei 455 mm vergrößert die Arbeit am Tage vorher den morgendlichen Ruhestoffwechsel um $8^0/_0$ (von 220 bis auf 238 ccm O_2).

Charakteristisch ist es, daß am 23. VI., wo am Tage vorher nur 40 Minuten lang (am Vormittag) gearbeitet wurde, der O_2-Verbrauch nur 229 ccm gegen 247 ccm an den zwei vorhergehenden Tagen (75 Minuten Arbeit, vormittags und abends) betrug. Auch die ganz allmähliche Steigerung des Stoffwechsels während der Arbeitsperiode ist von Interesse. Von dem Licht ist die Größe des Stoffwechsels hier wie bei früheren Untersuchungen unbeeinflußt (218 gegen 219).

Die Pulsfrequenz ist während der ganzen Periode des reduzierten Luftdrucks erhöht, von rund 60 bis auf rund 70 pro Minute: Arbeit und Licht ändern nichts daran, und von einer Angewöhnung ist hier nichts zu bemerken.

Die Hämoglobinwerte beginnen ca. 6 Tage nach angefangener Reduktion des Luftdrucks deutlich in die Höhe zu gehen. Nach einer Woche wird ein Niveau von durchschnittlich 138, gegen das normale: 118, erreicht, das von der Arbeit und von dem Licht nicht beeinflußt wird. Während der Nachperiode bei Normaldruck bleibt der Hämoglobingehalt erhöht: im Durchschnitt 135.

Die Kurve der alveolaren CO_2-Spannung (Kurve 1) zeigt schlagend die ganz allmähliche Weise, worauf J. L.s Akklimatisation sich hier wie in allen früheren Versuchen vollzieht. Der Abstand der Kurve von der der „akklimatisierten" Werte (siehe unsere Mitteilung II) bezeichnet den Grad der erreichten Akklimatisation. Es erscheint etwas zweifelhaft, ob die Arbeit zu der vollständigen Erreichung der Akklimatisation beigetragen hat oder nicht, jedenfalls war J. L. beim Einsetzen der Arbeit fast vollkommen akklimatisiert. Nach den Kurven zu urteilen, wird man doch geneigt sein, der Arbeit die schließliche Erreichung der akklimatisierten Werte zuzu-

schreiben. Das später hinzukommende Licht hat zu diesem Zeitpunkt für die alveolare CO_2 keine Rolle gespielt. Wir erinnern uns, daß durch das Licht die Atemmechanik tief geändert wurde, indem die Frequenz stark herabgesetzt, die Atemtiefe bedeutend vergrößert wurde. Diese Änderung ist demnach genau so ausgemessen worden, daß dabei die Alveolarventilation unverändert bleiben konnte. Auf unserer

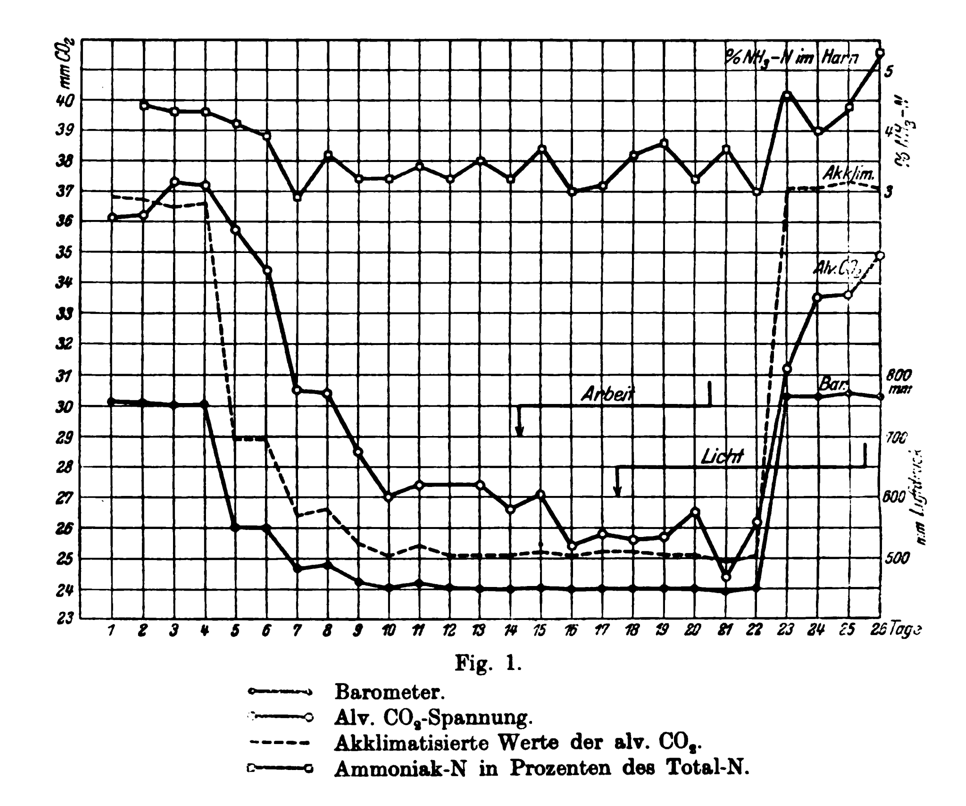


Fig. 1.

Barometer.
Alv. CO_2-Spannung.
Akklimatisierte Werte der alv. CO_2.
Ammoniak-N in Prozenten des Total-N.

Tiroler Expedition (s. Mitteilung I[1]) war bei dem schon im voraus akklimatisierten K. A. H. die Bedeutung der einsetzenden Lichtwirkung eben die hier geschilderte: nur die Atemmechanik, nicht die Alveolarventilation wurde dadurch verändert; bei dem unakklimatisierten J. L. dagegen bewirkte damals das Licht eine bedeutende Erhöhung der Alveolarventilation,

[1]) Skand. Arch. f. Physiol. **25**, 1911.

so daß die alveolare CO_2 um 3,4 mm erniedrigt wurde. Es könnte demnach so aussehen, als ob das ultraviolette Licht die Akklimatisierung an niedrige O_2-Drücke befördern könnte. — In der Nachperiode sehen wir (Kurve 1) die bekannte Nachwirkung des Höhenklimas, indem die sehr niedrigen Werte der alveolaren CO_2 sich allmählich der Norm nähern.

Wenden wir uns jetzt den Resultaten der Harnuntersuchung (Tabelle II) zu.

Tabelle II.

Harn.

Datum	Bar.	Diurese ccm	Total-N g	Ammoniak-N Total g	Ammoniak-N % des Total-N's	Formoltitrierbarer N Total g	Formoltitrierbarer N % des Total-N's	p_H	Bemerkungen
4. VI.	755	1580	15,17	0,66	4,4	0,19	1,3	5,30	
5.	750	1515	13,48	0,58	4,3	0,20	1,5	5,22	
6.	752	1420	12,43	0,54	4,3	0,22	1,8	5.20	Um 8 Uhr nachmittags Druckerniedrigung.
7.	552	1345	13,52	0,56	4,1	0,24	1,7	5,46	Kopfschmerzen während der Morgenstunden.
8.	552	1315	13,94	0,55	3,9	0,29	2,1	5,30	Um 5 Uhr nachmittags Druckerniedrigung.
9.	484	1580	14,85	0,44	2,9	0,30	2,1	5,81	In der Nacht Präkordialschmerzen, Dyspnoe, starke Kopfschmerzen; Cyanose.
10.	489	780	12,99	0,46	3,6	0,19	1,5	5,18	Guter Schlaf. Geringe Kopfschmerzen. Keine Cyanose.
11.	463	820	14,23	0,45	3,2	0,25	1,8	5,24	2 bis 3 Std. Schlaf. Morgendliche Kopfschmerzen.
12.	452	790	13,23	0,42	3,2	0,21	1,6	5,06	Guter Schlaf. Intensive morgendliche Kopfschmerzen.
13.	461	695	11,81	0,40	3,4	0,24	2,1	5,10	Geringe Kopfschmerzen.
14.	453	690	11,52	0,37	3,2	0,20	1,7	5,12	Kopfschmerzen schwindend.
15.	452	900	12,33	0,43	3,5	0,25	2,0	5,29	
16.	452	1070	14,85	0,46	3,2	0,25	1,7	5,24	85 Min. Arbeit.
17.	455	770	11,78	0,43	3,7	0,22	1,8	4,90	85 Min. Arbeit.
18.	453	925	14,20	0,43	3,0	0,24	1,7	5,12	Harn von Uraten getrübt. 75 Min. Arbeit.
19.	453	870	16,75	0,50	3,1	0,23	1,4	4,82	Harn klar, mit Harnsäurekrystallen. 75 Minuten Arbeit, 16 Min. Lichtbad.
20.	454	820	13,90	0,49	3,6	0,24	1,7	4,76	Harn von Harnsäure und Uraten getrübt. 75 Minuten Arbeit, 20 Min. Lichtbad.
21.	452	760	12,92	0,49	3.8	0,23	1,8	4,75	Harn wie gestern. 75 Minuten Arbeit, 12 Min. Lichtbad.
22.	452	790	14,98	0,45	3,2	0,21	1,6	4,98	Harn wie gestern. 40 Minuten Arbeit. 15 Min. Lichtbad.
23.	448	810	12,60	0,48	3,8	0,25	2,0	4,82	Harn klar, mit wenigen Krystallen. 15 Min. Lichtbad.
24.	452	1150	14,38	0,43	3,0	0,23	1,6	5,22	Harn klar, ohne Bodensatz. 9 Uhr vormittags bis 12 Uhr mittags: Druckaufgang.
25.	765	1065	12,19	0,56	4,6	0,22	1,8	4,74	Harn klar, mit vielen Krystallen. 16 Min. Lichtbad.
26.	766	1190	14,76	0,59	4,0	0,26	1,8	5,24	Harn klar, ohne Bodensatz. 16 Min. Lichtbad.
27.	769	1580	14,14	0,63	4,4	0,26	1,9	4,98	16 Min. Lichtbad.
28.	765	960	10,85	0,57	5,3	0,19	1,8	4,76	

Der Gesamtstickstoff im Harn ist hier kein Mittel zur Aufstellung einer N-Bilanz; er ist nur bestimmt worden, um die Berechnung der prozentualen Ammoniak- und Aminosäurenausscheidung zu ermöglichen. Der Total-N des Harns ist während des ganzen Versuches praktisch konstant, z. B. bei ca. 760 mm (7 Tage) im Durchschnitt 13,3 g, bei 455 mm (14 Tage) 13,5 g. Die Bewegungen der absoluten und der relativen Werte der Ammoniak- und der Aminosäurenausscheidung sind deshalb parallel, und wir können uns auf die Betrachtung der relativen Werte beschränken.

Hier fällt nun sofort auf, daß bei dem reduzierten Luftdruck die NH_3-Werte erniedrigt werden. Betrachten wir die Kurventafel, so ersehen wir, daß zu Anfang die Erniedrigung der NH_3-Werte der der alveolaren CO_2 parallel verläuft; nach dem dritten Tage bei niedrigem Luftdruck stellt sich der NH_3-Wert aber auf ein neues, niedriges Niveau ein, das mit der Rückkehr zum Normaldruck auf einmal in die ursprüngliche Höhe hinaufschnellt. An den drei letzten Tagen der Nachperiode kommt wieder ein bemerkenswerter Parallelismus der NH_3-Werte und der alveolaren CO_2-Werte zum Vorschein.

Nehmen wir aus den beiden obenerwähnten Perioden, bei 760 mm und bei 455 mm, die Durchschnittswerte, so ergibt sich:

7 Tage bei 760 mm: täglich **13,3** g N mit **0,59** g NH_3-N = **4,4**%
14 „ „ 455 „ „ **13,5** g „ „ **0,44** g „ = **3,3**%

d. h. eine Abnahme des NH_3-Anteils des N-Stoffwechsels um 25%.

Gelegentlich seiner Untersuchungen über die Wirkungen des Höhenklimas (Col d'Olen, Bar. ca. 520 mm, Margherita-Hütte, Bar. ca. 450 mm) auf den Aminosäurengehalt des Harns fand Signorelli[1]) bezüglich der NH_3-Ausscheidung die folgenden Werte[2]):

5 Tage bei Normaldruck (Neapel): täglich **15,3** g N mit **0,60** g NH_3-N = **3,9**%
4 „ „ 520 mm: täglich **16,2** g N mit **0,59** g „ = **3,6**%
2 „ „ 450 „ „ **15,9** g „ „ **0,47** g „ = **3,0**%

[1]) Diese Zeitschr. **39**, 1912.

[2]) Signorellis Durchschnittsberechnung ist stellenweise ein klein wenig ungenau und ist hier von uns korrigiert worden. Die prozentuale Berechnung stammt von uns her.

Signorellis Untersuchung verfolgt andere Absichten als die unsrige, und seinen Befunden mit Bezug auf das Ammoniak legt der Verfasser kein besonderes Gewicht bei. („Es zeigt sich eine leichte Abnahme —[1]). Uns scheint die Abnahme, die zufälligerweise[2]) von fast genau demselben Betrag wie in unserem Versuch ist, überaus bedeutungsvoll.

Signorellis Versuchsplan ging darauf aus, die Wirkungen forcierter Arbeit (Bergsteigungen) im Hochgebirge zu verfolgen. Die Marschtouren wurden nun bald bergab, bald bergauf vorgenommen, am Abend kehrte S. immer wieder nach Col d'Olen zurück. Mit Bezug auf den O_2-Druck ist aber eine Bergtour von 3000 m Meereshöhe aus bis auf 4500 m und zurück mit einer von 3000 m bis 1500 m und zurück natürlich nicht identisch. Nach unserem Versuchsergebnisse zu urteilen liegt die Möglichkeit vor, daß der niedrige O_2-Druck bei der ersten Tour und der hohe O_2-Druck bei der zweiten sowohl augenblickliche wie nachträgliche, differente Wirkungen entfalten können.

Signorelli resümiert[3]): „Er (der NH_3-N) erfährt keine nennenswerten Schwankungen". Gehen wir aber seinen Bestimmungen nach, so finden wir:

	NH_3-N %
3000 m bei Ruhe,	
Mittel von 4 Tagen, 30. VII bis 2. VIII.	3,6
3. VIII. Bergab, 1800 m und zurück .	3,5
4. VIII. Ruhe	**2,9**
5. VIII. Bergauf, 1560 m und zurück .	3,2
6. VIII. Ruhe	**4,6**
14. VIII. Ruhe	3,7
15. VIII. Bergauf, wie am 5. VIII. . .	3,5
16. VIII. Ruhe	**4,1**
8. IX. Bergauf, wie am 5. VIII. . . .	4,2
9. IX. Ruhe	**4,5**

Bei den zwei übrigen Märschen wurde sowohl bergauf als bergab gegangen.

[1]) l. c. S. 45.

[2]) Zufälligerweise, weil die Mittelzahl 3,0 bei 450 mm aus nur zwei stark differierenden Werten, 2,4 und 3,6, hervorgegangen ist.

[3]) l. c. S. 45.

Aus den hier angeführten 4 Versuchen kann wohl mit einigem Recht gefolgert werden, daß in allen Fällen die Marschtour von Erfolg gewesen ist, indem am Tage danach das Ammoniak angestiegen ist in den 3 Fällen, wo die Tour nach größerer O_2-Armut bergauf ging, und erniedrigt ist in dem einen Falle, wo die Tour nach größerem O_2-Druck talwärts ging.

Diese Deutung von Signorellis Beobachtungen beruht bis auf weiteres natürlich nur auf Vermutung. Die Vermutung wird aber durch die entsprechende Bewegung der NH_3-Werte in der Nachperiode unseres Versuchs gestützt; hier reagiert der Organismus auf den Übergang in eine sauerstoffreichere Atmosphäre mit einer NH_3-Produktion, die anscheinend über das Normale hinausgeht.

Sollte bei fortgesetzten Untersuchungen die Beobachtung bestätigt werden, daß die Ammoniakausscheidung des Organismus von dem Sauerstoffdruck der Atmosphäre gesetzmäßig beeinflußt wird, so ist, scheint es uns, eine weite Aussicht geöffnet worden, in die Physiologie des Sauerstoffmangels tiefer eindringen zu können. Die Frage wird dann lauten: beginnt vielleicht der Akklimatisierungsprozeß nicht mit einer Überproduktion von fixen Säuren, nicht mit einer Mehrausscheidung von Basen, sondern mit einer Unterproduktion der starken, für die Neutralitätsregulation so wichtigen Base, des Ammoniaks?

Selbst mit der etwaigen Bejahung dieser letzten Frage sind, glauben wir, die Rätsel der Akklimatisierung nicht gelöst. Betrachten wir die p_H-Werte des Harns (Tabelle II), so finden wir z. B. absolut keinen Parallelismus zwischen der Reaktion und dem NH_3-Gehalt des Harns, wie wir vielleicht nach den Untersuchungen von Hasselbalch und Gammeltoft[1]) über den graviden und den nicht graviden Organismus zu erwarten geneigt sein könnten. Im Gegenteil: an dem Tag, dem 9. VI., wo J. L. im eigentlichen Sinne des Wortes bergkrank war, wurde bei dem niedrigsten NH_3-Gehalt der alkalischste Harn der ganzen Reihe ausgeschieden. Welche Verschiebungen des Ionengleichgewichtes sich hier geltend gemacht haben, wissen wir nicht, bemerken aber nur, daß auch in dem Falle (s. Mit-

---

[1]) Diese Zeitschr. 68, 1915.

teilung II), wo K. A. H. sehr bergkrank war, ein sogar noch weit alkalischerer Harn produziert wurde.

Mit Bezug auf die Harnacidität ist übrigens nur zu bemerken, daß (Tabelle II) die O_2-Armut sonst keinen nachweisbaren Einfluß hierauf zeigt, während dagegen die Arbeit einen deutlich saureren Harn verursacht, aus dem sich in der Kälte Harnsäurekrystalle ausscheiden.

Der prozentuale Aminosäurengehalt des Harns schwankt während der ganzen Serie zwischen 1,3 und 2, und zwar auf eine Weise, die keine Gesetzmäßigkeit erkennen läßt. Wir müssen daraus folgern, daß die O_2-Armut keinen nachweisbaren Einfluß auf diese Funktion ausübt, und sind dabei in Widerspruch mit Signorellis[1]) Schlußfolgerungen, nach denen eine Erniedrigung der Aminosäurenausscheidung im Höhenklima stattfinden sollte. Das Material, aus dem S. diese Schlußfolgerung zieht, ist aber wie in der untenstehenden Zusammenstellung gezeigt beschaffen:

5 Tage bei Normaldruck, täglich: 15,3 g N mit 0,29 g Amino-N = 1,9 %
4 „ „ 520 mm (Col d'Olen): 16,2 g N mit 0,325 g Amino-N = 2,0 %
2 „ „ 450 „ (Margheritahütte): 15,9 g N mit 0,25 g Amino-N = 1,6 %

Bei 520 mm Totaldruck, 3000 m über dem Meer, ist demnach von der behaupteten Wirkung der Luftverdünnung nichts zu bemerken (2,0 gegen 1,9). Erst bei 450 mm sollte die Wirkung zum Vorschein kommen. Nun sind aber die zwei Tage in der Margheritahütte als erster und zweiter Ruhetag nach einer Bergsteigung zu bezeichnen, und das Hauptergebnis von Signorellis Untersuchungen ist eben, daß die Steigarbeit im Hochgebirge auf den Aminosäurengehalt des Harns eine deutlich herabsetzende Wirkung ausübt, die noch am ersten Ruhetage bemerkbar ist, indem der Amino-N dieses Tages im Durchschnitt nur 1,55 % beträgt. Von den zwei Tagen bei 450 mm sollte demnach der erste aus der Berechnung ausgeschieden werden. An dem zweiten Tage war die Zahl zwar 1,5 %, aber auf Col d'Olen schwankten die Werte zwischen 2,4 und 1,2,

[1]) l. c. S. 45.

so daß ein einziger Wert von der Größe 1,5 absolut nicht beweisend erscheint.

Der Gegensatz zwischen Signorellis und unseren Erfahrungen ist demnach nur anscheinend. Die Sauerstoffarmut der Atmosphäre hat für den Aminosäurenanteil des N-Stoffwechsels keine nachweisbare Bedeutung.

Zusammenfassung der Hauptergebnisse.

Während eines 26tägigen Kabinettversuchs, wo 14 Tage bei 455 mm Totaldruck verbracht wurden, zeigte sich der O_2-Verbrauch der Versuchsperson von dem Sauerstoffdruck der Atmosphäre gänzlich unbeeinflußt.

Die Akklimatisierung war eine allmähliche und wurde durch Muskelarbeit vielleicht etwas befördert.

Während der Druckreduktion zeigte sich eine bemerkenswerte Abnahme der Ammoniakausscheidung mit dem Harn Der Aminosäurengehalt des Harns blieb konstant.

Beiträge zur Kenntnis der Hundemilch.

Von

W. Grimmer.

(Aus der physiologisch-chemischen Versuchsstation der Kgl. Tierärztlichen Hochschule, Dresden.)

(Eingegangen am 30. Oktober 1914.)

Untersuchungen über die Zusammensetzung und die Eigenschaften der Hundemilch sind in früheren Jahren des öfteren ausgeführt worden, in neuerer Zeit liegen jedoch bis auf einige Angaben von Dijkstra[1]) keine Mitteilungen über diesen Gegenstand vor. Hinsichtlich der älteren Literatur sei auf die Angaben in dem Stohmannschen Werke: „Milch und Molkereiprodukte", Vieweg und Sohn, Braunschweig, verwiesen.

Dieser Mangel an neueren Untersuchungen veranlaßte mich, als sich eine Gelegenheit hierzu bot, die Milch einer Hündin während einer vollen Lactationsperiode zu untersuchen. Die chemische Untersuchung erstreckte sich auf die Bestimmungen der Trockensubstanz, der Asche und des Fettes, vor allem aber wurde untersucht, in welcher Weise sich der Stickstoff verteilt. Unsere Kenntnis über diese Frage ist bei den verschiedenen Milcharten noch eine sehr beschränkte, und eigentlich nur bei der Kuhmilch ist sie fast restlos gelöst. Bei den anderen Milcharten hat man sich stets nur damit begnügt, neben dem Caseinstickstoff noch die Menge des den hitzekoagulablen Eiweißkörpern zugehörigen Stickstoffs zu bestimmen, ohne danach zu fragen, wie groß die Anteile an Albumin und Globulin in dieser Fraktion sind. Selbst bei der Frauenmilch, nächst der Kuhmilch der bestuntersuchten Milchart, ist diese Frage kaum berührt worden, nur einmal gaben Bauer und Engel[2]) der Ver-

---

[1]) Dijkstra, Molkereizeitung Hildesheim Nr. 79, 1910.

[2]) Bauer und Engel, diese Zeitschr. 31, 46, 1911.

mutung Ausdruck, daß das hitzekoagulable Eiweiß der Frauenmilch nicht ausschließlich auf Albumin zu beziehen ist, sondern daß auch Globulin in nennenswerten Mengen darin vorkommt. Eine Bestätigung dieser Vermutung ist bisher nicht erfolgt.

Das Tier, von dem die Milch gewonnen wurde, war ein Bastard, ca. 18 kg schwer und zur Zeit des Geburtsaktes ca. 3 Jahre alt. Am 5. VII. 1912 warf es in der Zeit von $2^1/_4$ bis 7 Uhr nachmittags vier Junge, die sofort nach der Geburt von der Mutter entfernt wurden. Am selben Abend gegen 9 Uhr erfolgte dann die erste regelmäßige Milchentnahme, nachdem schon einige Tage vor der Geburt zeitweise Proben entnommen worden waren. Die ersten Anzeichen einer beginnenden Milchsekretion wurden schon am 29. VI. beobachtet, an diesem Tage gelang es, durch Abdrücken etwa 2 bis 3 ccm einer gelben, äußerst zähflüssigen Flüssigkeit zu erhalten, die im mikroskopischen Bilde außer einer großen Zahl von Fettkügelchen zahlreiche Colostrumkörperchen zeigte. Sie gab weiterhin eine schwache Reaktion mit Guajactinktur und mit Paraphenylendiamin-Guajacol (Rothenfussers Reagens). Es war dies das einzige Gemelk, das mit Guajactinktur eine Peroxydasenreaktion zeigte, diese Reaktion trat bei keiner einzigen der späteren Milchproben wieder ein, diese gaben vielmehr nur die Reaktion mit Paraphenylendiamin. Am 30. VI. konnten bereits 34 g, am 1. VII. 43 g ermolken werden, am 4. VII., dem Tage vor der Geburt, wurden bei einer Melkung schon 95 g Flüssigkeit erhalten. Alle diese Proben hatten wie die zuerst erhaltenen eine gelbe Farbe und waren sehr dickflüssig, wenn auch nicht so zäh wie die erste vom 29. VI. In den ersten zwei Tagen nach der Geburt nahm die gelbe Farbe immer mehr ab, und vom 8. VII. ab besaß die Milch während der ganzen Lactationsperiode eine fast rein weiße, nur sehr schwach ins Gelbliche spielende Farbe. Vereinzelte Colostrumkörperchen konnten noch am 9. VII. in der Milch nachgewiesen werden, dann traten sie bis fast zum Schlusse der Lactation nicht mehr auf, erst vom 3. VIII. ab zeigten sich wieder welche. Am 10. VIII. war die Milchmenge eine so geringe geworden, daß ein baldiges Versiegen in Aussicht stand und der Versuch abgebrochen wurde. Die Lactation konnte also durch bloßes Melken 36 Tage lang erhalten bleiben, eine Zeit, die man wohl, da das Tier

eine I-para war, als normale Lactationsperiode ansehen kann. Abgesehen vom ersten Tage post partum, an dem die Hündin 4mal gemolken wurde, wurde täglich 3mal die Milch entnommen. Die erhaltenen Resultate sind in Tabelle I niedergelegt.

Tabelle I.

Menge und Zusammensetzung der Hundemilch.

Datum	Milchmenge g	Trockensubstanz %	Fett %	Eiweiß % (Eiweiß-N + 6,25)	Asche %	Differenz zwischen der Summe der Einzelbestandteile und der Gesamttrockensubstanz
30. VI. u. 1. VII.	77	21,65	8,91	12,89	1,09	3,76
4. VII.	95	22,96	6,71	11,81	1,02	3,42
5. VII. abends 9^h	57	22,30	8,74	9,51	1,06	2,99
6. früh 9^h	120	20,66	7,80	8,83	1,05	2,98
6. mittags 1^h	83	21,51	7,24	8,10	1,09	5,08
6. nachm. 5^h	98	20,99	7,50	7,90	0,97	4,62
6. abends 9^h	94	21,40	7,74	7,44	0,92	5,30
7. VII.	319	19,39	7,10	7,04	0,99	4,26
8.	330	20,56	8,56	6,88	1,01	4,11
9.	351	18,70	6,67	6,83	1,02	4,18
10. VII.	350	20,81	8,23	7,16	1,04	4,38
11.	314	19,34	7,81	6,63	0,99	3,91
12.	337	19,25	7,57	6,63	0,96	4,09
13.	326	20,31	8,39	6,66	1,06	4,20
14.	323	21,00	9,32	6,64	1,08	3,96
15.	284	20,25	8,21	6,72	1,12	4,20
16.	333	20,00	8,34	6,61	1,03	4,02
17.	342	21,23	9,28	6,57	1,08	4,30
18.	335	20,35	8,67	6,29	1,08	4,31
19.	263	—	—	6,62	—	—
20.	193	21,70	—	6,82	1,17	—
21.	252	20,83	8,72	6,81	1,08	4,22
22.	167	20,90	8,56	7,04	1,15	4,15
23.	276	20,98	8,61	7,04	1,11	4,22
24.	246	20,57	—	—	1,07	—
25.	268	20,74	8,17	7,29	1,09	4,19
26.	192	21,03	—	8,02	1,12	—
27.	189	20,89	7,91	7,79	1,06	4,13
28.	161	20,94	—	—	1,10	—
29.	193	21,38	8,23	7,95	1,13	4,07
30.	178	22,08	8,95	8,07	1,11	3,95
1. VIII.	237	22,01	8,77	8,04	1,09	4,11
3.	183	22,17	—	8,10	1,07	—
5.	141	22,39	9,14	8,27	1,10	3,88
7.	119	23,64	9,31	9,66	1,13	3,54
9.	86	23,68	9,18	9,87	1,17	3,46
10.	41	—	—	—	—	—

Die Menge der Trockensubstanz bewegt sich während der ganzen Lactationsperiode in sehr engen Grenzen. Die Grenz-

werte betragen 19,25 und 23,68 %. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß der höchste Wert nicht in die Colostralperiode, sondern gegen das Ende der Lactationsperiode fällt. Das Colostrum selbst hat, wenn wir von der zuerst nach der Geburt ermolkenen Milch absehen, überhaupt keinen gegenüber der normalen Milch erhöhten Trockensubstanzgehalt. Hierin besteht ein wesentlicher Unterschied gegenüber dem Colostrum der Wiederkäuermilcharten und dem Frauencolostrum, die sich vor der reifen Milch durch einen erheblich erhöhten Trockensubstanzgehalt auszeichnen. Wohl aber bestehen quantitative Unterschiede hinsichtlich der Zusammensetzung der Trockensubstanz, die zwar nur geringgradig, aber doch deutlich wahrnehmbar sind. In der Colostralperiode erscheint der Eiweißgehalt etwas erhöht, er sinkt dann allmählich bis auf 6,5 bis 7,0 % ab und steigt erst gegen Ende der Lactation wieder deutlich an. Der Fettgehalt des Colostrums zeigt gegenüber dem der reifen Milch ebenso wie der Aschegehalt keine Besonderheiten. Am sinnfälligsten sind die Unterschiede bei den nicht bestimmten Bestandteilen, die der Hauptmenge nach aus Zucker bestehen. Ihre Menge ist kurz nach der Geburt sehr niedrig (ca. 3 %), steigt am nächsten Tage ganz unvermittelt bis 5,08 % an und sinkt gegen Ende der Colostralperiode bis auf ca. 4 % ab, um dann während des größten Teils der Lactation nahezu konstant zu bleiben. Erst gegen Ende derselben ist ein weiteres Sinken bis auf weniger als 3,5 % zu beobachten. Besonders bemerkenswert ist hierbei, daß die niedrigen Werte zu Beginn und zu Ende der Lactation mit besonders hohen Mengen an nicht eiweißartigen Reststickstoffsubstanzen zusammenfallen (Tab. II), woraus ohne weiteres der Schluß gezogen werden kann, daß zu Beginn und am Ende der Lactation besonders wenig Zucker in der Frauenmilch enthalten ist.

Eine wesentlich verschiedene Zusammensetzung hat die vor der Geburt ermolkene Milch. Diese zeichnet sich durch einen besonders hohen Gehalt an Eiweiß und einen sehr niedrigen Fettgehalt aus. Auch die Menge der Restsubstanzen ist niedriger als in der reifen Milch, aber höher als in dem ersten Colostrum, Aschengehalt und Trockensubstanzgehalt zeigen keine Abweichungen von der reifen Milch.

Tabelle II.

Die Verteilung des Stickstoffs in der Hundemilch.

Datum	Gesamt-N %	Eiweiß-N %	Casein-N %	Albumin-N %	Globulin-N %	Eiweiß-N in % des Gesamt-N	Casein-N in % des Eiweiß-N	Albumin-N in % des Eiweiß-N	Globulin-N in % des Eiweiß-N
30. VI. + I. VII.	2,424	2,062	0,693	1,369		85,09	34,37	65,63	
4. VII.	2,271	1,890	0,762	0,499	0,629	83,22	40,33	26,39	33,28
5. VII., abds. 9h	1,929	1,522	0,646	0,420	0,456	78,91	42,43	27,61	29,96
6. früh 9h	1,790	1,412	0,642	0,395	0,375	78,87	45,44	27,98	26,58
6. mitt. 1h	1,435	1,296	0,530	0,448	0,318	90,33	40,86	34,59	24,55
6. nachm. 5h	1,401	1,264	0,555	0,415	0,294	90,33	43,90	32,82	23,28
6. abds. 9h	1,317	1,191	0,600	0,361	0,230	90,43	50,35	30,35	19,30
7. VII.	1.289	1,126	0,633	0,353	0,140	87,39	56,22	31,34	12,44
8.	1,224	1,110	0,597	0,305	0,208	90,62	53,79	27,53	18,68
9.	1,152	1,092	0,638	0,227	0,227	94,79	58,52	20,79	20,69
10. VII.	1,210	1,145	0,717	0,252	0,176	94,55	62,65	22,03	15,32
11.	1,121	1,061	0,675	0,193	0,193	94,63	63,67	18,23	18,10
12.	1,160	1,061	0,692	0,182	0,187	91,42	66,78	17,17	15,05
13.	1,146	1,065	0,709	0,171	0,185	92,91	66,58	16,05	17,37
14.	1,129	1,063	0,684	0,193	0,186	94,17	64,30	18,18	17,52
15.	1,143	1,075	0,675	0,205	0,195	94,00	62,84	19,03	18,13
16.	1,121	1,058	0,647	0,207	0,204	94,38	61,19	19,60	19,21
17.	1,104	1,051	0,633	0,216	0,202	95,18	60,34	20,53	19,13
18.	1,087	1,006	0,566	0,199	0,241	92,31	56,27	19,78	23,95
19.	1,112	1,059	0.597	0,462		95,21	56,35	43,65	
20.	1,177	1,091	0,605	0,235	0,251	92,74	55,45	21,57	22,98
21.	1,149	1,090	0,608	0,482		94,88	55,78	44,22	
22.	1,196	1,126	0,650	0,182	0,294	94,15	57,71	16,17	26,12
23.	1,177	1,126	0,675	0,451		95,71	59,95	40,05	
24.	1,160	—	—	—	—	—	—	—	—
25.	1,227	1,166	0,672	0,247	0,247	94,98	57,69	21,15	21,16
26.	1,384	1,283	0,776	0,294	0,213	92,71	60,48	22,93	16,59
27.	1,295	1,247	0,712	0,303	0,232	96,32	57,08	24,27	18,65
28.	1,261	—	—	—	—	—	—	—	—
29.	1,320	1,272	0,695	0,577		96,39	54,50	45,50	
30.	1,351	1,292	0,706	0,291	0,295	95,64	54,63	22,56	22,81
1. VIII.	1,379	1,287	0,723	0,283	0,281	93,39	56,15	21,98	21,87
3.	1,387	1,296	0,715	0,289	0,292	93,43	55,13	22,27	22,60
5.	1,504	1,324	0,720	0,308	0,296	88,04	54,39	23,28	22,33
7.	1,650	1,545	0,779	0,401	0,365	93,63	50,41	25,93	23,64
9.	1,757	1,580	0,782	0,392	0,406	89,95	49,47	24,82	25,71

Besonderes Interesse haben die Untersuchungen über die Verteilung des Stickstoffs in der Milch. Die einzelnen Fraktionen wurden in folgender Weise bestimmt. Der Gesamtstickstoff wurde durch Verbrennung von 5 ccm Hundemilch nach **Kjeldahl** ermittelt. Zur Caseinbestimmung wurden 5 ccm Hundemilch mit Wasser auf das 10fache verdünnt. In dieser

Mischung wurde bei Zimmertemperatur durch vorsichtigen tropfenweisen Zusatz von ca. 5%iger Essigsäure das Casein ausgefällt. Nach dem Filtrieren und Auswaschen wurde der Filterrückstand mit Alkohol und Äther entfettet, da sonst bei der Verbrennung die freiwerdenden Fettsäuren sich sehr störend bemerkbar machen. Im Filtrat von der Caseinfällung wurden Albumin und Globulin durch Gerbsäure gefällt. In weiteren 5 ccm Milch wurden Casein + Globulin durch Magnesiumsulfat abgeschieden, im Filtrate hiervon wurde das Albumin mit Gerbsäure gefällt. Die Summe der Fällungen ergab den Eiweißstickstoff, das Globulin wurde durch Differenzrechnung ermittelt. Tabelle II enthält die gefundenen Resultate. Hier ist ganz deutlich ersichtlich, wie die Menge des Gesamtstickstoffs, die gleich nach der Geburt ziemlich hoch ist, in den ersten 4 Tagen ziemlich rasch absinkt, dann längere Zeit nahezu konstant bleibt und dann allmählich wieder ansteigt. In gleichem Sinne, aber etwas flacher verläuft die Kurve für den Eiweißstickstoff. Infolgedessen ist zu Beginn und am Ende der Lactation die relative Menge des nichteiweißartigen Stickstoffs erhöht, während sie sich auf der Höhe der Lactation in ziemlich niedrigen Grenzen hält. Die vor der Geburt sezernierte Milch hat im Verhältnis zur ersten Colostralmilch einen relativ geringeren Gehalt an Reststickstoff, während die absoluten Mengen eher größer sind. Es sei an dieser Stelle nochmals darauf hingewiesen, daß, je höher die Menge des Reststickstoffs ist, um so niedriger die Gesamtmenge der nicht bestimmten Bestandteile ist. Da diese außer aus Reststickstoffsubstanzen, deren Menge gerade hier wesentlich erhöht ist, im wesentlichen aus Zucker bestehen, muß geschlossen werden, daß der Zuckergehalt der Hundemilch zu Beginn und zu Ende der Lactation besonders erniedrigt ist.

Vor der Geburt ist der Caseingehalt der Hundemilch ziemlich hoch, sinkt in der ersten Zeit der Colostralperiode rasch ab, steigt dann aber wieder an und erreicht kurz nach Beendigung der Colostralperiode ein zweites Maximum. Nachdem in der Mitte der Lactation ein zweites Minimum erreicht wurde, findet nach dem Ende der Lactation zu ein stetiges Steigen der Caseinmenge statt, und am Schlusse derselben finden wir die höchsten Caseinwerte überhaupt. Viel einfacher

verlaufen die Kurven für Albumin und Globulin. Deren Menge ist zu Beginn der Milchsekretion am höchsten, nimmt bis ungefähr zur Mitte der Lactation ziemlich regelmäßig ab, um nach dem Ende zu allmählich wieder anzusteigen.

Bei der Betrachtung der Verteilung der einzelnen Fraktionen in Prozenten des Eiweißstickstoffs ergibt sich aber ein anderes Bild. Dann ist zu Beginn der Lactation die Caseinmenge am geringsten, steigt dann bis kurz nach Beendigung der Colostralperiode stetig an, sinkt bis zur Mitte der Lactation ziemlich rasch ab, erreicht im zweiten Drittel wieder ein Maximum und fällt schließlich gegen Ende der Lactation wieder ab. Die Kurve für Albumin und Globulin verläuft dann entsprechend.

Bemerkenswert ist nun, daß die hitzekoagulablen Eiweißkörper nicht wie bei der Kuhmilch fast ausschließlich aus Albumin bestehen — nur im Kuhcolostrum ist anfangs das Globulin in überwiegendem Maße vorhanden —, sondern daß ein großer Teil derselben aus Globulin besteht. Zu Beginn der Sekretion überwiegt auch hier das Globulin, bald aber erhält das Albumin vorübergehend das Übergewicht, bis schließlich während des Restes der Lactationsperiode beide Eiweißkörper in annähernd gleichen Mengen auftreten. Im ganzen setzen sich die Eiweißkörper der Hundemilch zusammen aus etwa 50 bis 67% Casein, 15 bis 25% Albumin und 15 bis 25% Globulin.

Man wird annehmen dürfen, daß auch in anderen Milch arten Globulin in nennenswerten Mengen auftritt. Engel und Bauer deuteten bereits an, daß ein beträchtlicher Teil des hitzekoagulablen Eiweißes der Frauenmilch auf Globulin zu beziehen ist. Ich glaube, daß man auf Grund der in der Literatur enthaltenen Daten über die Eiweißkörper der Milch dem zustimmen kann. Nach Schloßmann[1]) enthält die Frauenmilch ca. 55% Casein und ca. 45% Albumin und Globulin. Meigs und Marsh[2]) andererseits bestimmten die Menge der durch Magnesiumsulfat fällbaren Anteile des Eiweißes, also Casein + Globulin, zu 83,76% des Gesamteiweißes, und Albumin zu 16,24%. Wir haben also, wenn wir abgerundete

[1]) Schloßmann, zit. nach Engel in Sommerfelds Handbuch der Milchkunde 1909.

[2]) Meigs und Marsh, Journ. of Biolog. Chem. 14, 147, 1913.

Zahlen unserer Berechnung zugrunde legen, 84 — 55 = 29 % Globulin in der Frauenmilch, eine Menge, welche die des Albumins wesentlich überragt.

Mit dieser Feststellung fällt aber der Versuch, zwischen Casein- und Albuminmilcharten zu unterscheiden, da ja die hitzekoagulablen Eiweißkörper, wenn überhaupt sie in größerer Menge als Casein in der Milch enthalten sind, was durchaus nicht immer der Fall ist, zum großen Teil, wenigstens soweit Frauen- und Hundemilch in Betracht kommen, aus Globulin bestehen. Von diesen drei Eiweißkörpern überwiegt aber in den meisten Fällen das Casein, so daß eine Unterscheidung nach dem Meistgehalte eines Eiweißkörpers kaum möglich sein dürfte.

Tabelle III.

Datum	In 5 Minuten ausgelaufene Flüssigkeit		Viscosität (Wasser = 100)	Oberflächenspannung (Wasser = 7,45)
	g	Tropfen		
Wasser	10,1046	177	100	7,45
30. VI. + 1. VII.	1,0210	40	1060	3,33
14. VII.	2,3135	73	468	4,14
16.	2,3455	77	461	3,98
17.	2,6152	85	414	4,01
20.	2,0080	71	539	3,69
21.	2,6140	82	414	4,16
22.	2,7680	84	391	4,30
23.	2,5616	79	423	4,23
26.	2,5415	78	426	4,25
27.	2,5470	78	425	4,26
5. VIII.	2,2494	68	481	4,32
Kuhmilch	—	—	ca. 180	ca. 5,3
Ziegenmilch	4,8080	117	225	5,36
„	5,3956	120	200	5,42

Noch einiges über die physikalischen Eigenschaften der Hundemilch. Das spezifische Gewicht der Hundemilch schwankte innerhalb sehr enger Grenzen zwischen 1,0345 und 1,036, wobei die niedrigeren Werte einem höheren Fettgehalte entsprachen. Von sonstigen physikalischen Konstanten interessierten in erster Linie die Viscosität und die Oberflächenspannung. Die diesbezüglichen Untersuchungen wurden mittels eines einfachen Viscosimeters nach Soxhlet-Reischauer mit konstanter Flüssigkeitssäule ausgeführt. Die Beobachtungsdauer betrug 5 Minuten. Als Vergleichswerte wurden die des Wassers herangezogen,

dessen Viscosität gleich 100, dessen Oberflächenspannung gleich 7,45 gesetzt wurde. Die erhaltenen Werte befinden sich in Tabelle III. Aus ihr ist ersichtlich, daß die Viscosisität der Hundemilch, entsprechend ihrem Substanzreichtum, sehr hoch ist und die der Kuhmilch um fast das 2,5 fache überragt. Einen besonders hohen Wert zeigt das einige Tage ante partum gewonnene Sekret, das seine Viscosität wohl in erster Linie seinem hohen Gehalte an Eiweiß zu verdanken hat. Sinnfällige Beziehungen zwischen der Zusammensetzung der Hundemilch und ihrer inneren Reibung scheinen nicht zu bestehen.

Die Oberflächenspannung der Hundemilch ist gegenüber der des Wassers und der Kuh- und Ziegenmilch stark erniedrigt, ebenfalls bedingt durch den Reichtum der Hundemilch an Fett und Eiweiß. Besonders das Eiweiß scheint eine starke Depression der Oberflächenspannung zu bewirken, da das 5 und 6 Tage vor der Geburt gewonnene Sekret, das eine besonders niedrige Oberflächenspannung besitzt, nicht sonderlich reich an Fett, wohl aber an Eiweiß war.

Über die Fähigkeit der normalen und der der fettigen Degeneration verfallenen überlebenden Froschleber, Zucker zu bilden.

Von

Vittorio Scaffidi.

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der k. Universität Neapel.)

(Eingegangen am 4. November 1914.)

Nach den klassischen Untersuchungen Cl. Bernards über die glykogene Funktion der Leber sind beim Studium dieser Frage Forschungsmethoden verwendet worden, die gestatten, was in der vom Tier getrennten Leber vor sich geht, so zu kontrollieren, daß man aus ihrer funktionellen Tätigkeit unter Ausschluß der gleichzeitigen Mitwirkung anderer Organe Schlüsse ziehen kann. Dies wurde ermöglicht durch die Methode der künstlichen Durchblutung und durch das Studium der glykogenen Tätigkeit der überlebenden Leber. Die Resultate dieser Untersuchungen bestätigen einerseits im wesentlichen alles, was Cl. Bernard gesehen hat, und liefern uns andererseits wertvolle Daten für die Kenntnis der Modalitäten, mit denen die Erscheinungen verlaufen.

F. Kraus[1]) fand, daß der Zucker der Flüssigkeit, mit der die künstliche Durchblutung in der Leber aufrecht erhalten wird, zunimmt. Grube[2]) seinerseits bestätigte diese Tatsache und bemerkte, wenn die künstliche Durchblutung mit einer an Zucker reichen Flüssigkeit bewirkt werde, könne die Zunahme des in der Leber enthaltenen Glykogens konstatiert werden.

[1]) Kraus, Über Zuckerbildung in der Leber bei Durchblutungsversuchen. Arch. f. d. ges. Physiol. 98.

[2]) Grube, On the formation of glycogen in the artificially perfused Liver. Journ. of Physiol. 29.

Diese letztere Tatsache wurde in jüngster Zeit auch von Parnas und Baer[1]) wahrgenommen.

Embden[2]) beobachtete bei der künstlichen Durchblutung der Leber, die praktisch als vollständig glykogenfrei betrachtet werden kann, die Anwesenheit von Zucker in der Durchblutungsflüssigkeit während der ersten Versuchsstunde. Ließ er durch die infolge einer vorhergehenden Durchblutung erschöpfte Leber neues frisches Blut zirkulieren, so erschien neuer Zucker in ihr. Aus Embdens Untersuchungen würde sich ergeben, daß der Zucker von anderen Stoffen herstammt, mit Ausnahme des Glykogens, das bei den von ihm ausgeführten Versuchen nicht vorhanden war; aber Embden selbst kann nicht sagen — und aus den Versuchen ergibt es sich nicht deutlich —, ob diese Stoffe in der Leber oder in dem zur künstlichen Durchblutung verwendeten Blute vorhanden waren.

Iwanow[3]) beobachtete, als er Ringersche Flüssigkeit durch die Kaninchenleber zirkulieren ließ, während der beiden ersten Stunden des Versuches die Anwesenheit von Zucker in der Zirkulationsflüssigkeit; während der folgenden Stunden nahm die Zuckermenge, die an die zirkulierende Flüssigkeit abgegeben wurde, ab.

Masing[4]) konnte mit der Methode der künstlichen Durchblutung nachweisen, daß zahlreiche Faktoren, und darunter die Sauerstoffabnahme in der Durchblutungsflüssigkeit, eine Zunahme des Zuckers in der Durchblutungsflüssigkeit (defibriniertes Blut), unter Ausschluß der Wirkung des Nervensystems, veranlassen.

Dies würde erklären, warum bei Cl. Bernards Untersuchungen die Zuckerbildung in der Leber bei getöteten und nicht bei lebenden Tieren erfolgte (was zu den Einwänden Pavys Anlaß gab), und es würde das Verschwinden des Glykogens nach Unterbindung der Aa. coeliaca und mesenterica

[1]) Parnas und Baer, Über Zuckerabbau und Zuckeraufbau im tierischen Organismus. Diese Zeitschr. 1, 386.

[2]) Embden, Über Zuckerbildung bei künstlicher Durchblutung der praktisch glykogenfreien Leber. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6.

[3]) Iwanow, Die Zuckerbildung in der isolierten Leber (in russischer Sprache); zitiert von Masing.

[4]) Masing, Über Zuckermobilisierung in der überlebenden Leber. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 69, 1913.

(Slosse[1]) und der Glucosurie nach Reizung des N. splanchnicus (Macleod[2]) erklären, welche Glucosurien von experimentellen Bedingungen abhängen, die eine Verminderung des Gasaustausches der Leber infolge Entziehung und Verminderung der zirkulierenden Blutmenge hervorrufen sollen. Diese Hypothese wurde übrigens durch experimentelle Untersuchungen von Macleod selbst[3]) gestützt. Die Resultate dieser Untersuchungen bestätigen, was früher Lesser[4]) angenommen hatte, nach dessen Ansicht die Vögel, Frösche und die Muskeln von Warmblütern zum großen Teil den Glykogenvorrat nach Entziehung oder Abnahme des umgebenden Sauerstoffs verlieren; auf Grund dieser Ergebnisse gelangt Lesser selbst zu der Schlußfolgerung, daß der partielle Druck des Sauerstoffs in der Zelle wie eine Art Regulator des Zuckeraustausches funktioniert.

Aus den zahlreichen Untersuchungen von Bang, Ljungdhal und Bohm[5]) ergibt sich, daß zahlreiche Faktoren auf die glykogenolytische Eigenschaft der Leber einwirken können. Die Untersuchungen wurden an der überlebenden Kaninchenleber ausgeführt und aus ihnen ergibt sich, daß auf die Fähigkeit der Leber, aus dem Glykogen Zucker zu bilden, zahlreiche Faktoren einwirken, darunter der Ernährungszustand des Tieres; verschiedene experimentelle Momente, wie Reizung des Vagus, Tötung des Tieres vermittels starken Traumas im Nacken, Punktur des 4. Ventrikels und verschiedene Stoffe (Morphium, Strychnin, Phlorizin), die dem Tiere dargereicht werden, ehe es getötet wird.

Endlich führte Bang selbst[6]) sehr zahlreiche Untersuchungen über das glykogene Vermögen der überlebenden Froschleber aus, aus denen sich ergibt, daß die glykogenolytische Fähigkeit der Froschleber je nach der Art (Rana esculenta und R. fusca) variiert, daß die das Glykogen spaltende Diastase sich

---

[1]) Slosse, Die künstliche Verarmung der Leber an Glykogen. Arch. f. (Anat. u.) Physiol. Suppl. **1890**.

[2]) Macleod, zitiert von Masing.

[3]) Macleod, Experimentalglucosurie. Biological Chemistry **4**, 1908.

[4]) Lesser, Zeitschr. f. Biol. (siehe Masing).

[5]) Bang, Ljungdhal und Bohm, Untersuchungen über den Glykogenumsatz in der Kaninchenleber. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **9** u. **10**.

[6]) Bang, Zuckerbildung der Froschleber. Diese Zeitschr. **49**, 1913.

in derselben Menge vorfindet und gleich aktiv im Blute und in der Leber ist, und daß ferner verschiedene Stoffe, wie z. B. das Adrenalin und der Alkohol, in bestimmten Verhältnissen, die Tätigkeit dieser Diastase erhöhen.

Unsere Kenntnisse über die glykogene Tätigkeit der tiefgehend, wie z. B. bei der fettigen Entartung veränderten Leber, sind fast gleich Null, weil uns kein experimentelles Datum bekannt ist, aus dem hervorgeht, ob und welche Modifikationen die glykogene Funktion erleidet, wenn die Leber einem degenerativen Prozeß entgegengeht, der, wie man a priori annehmen muß, eine tiefgehende Änderung der Zelltätigkeit mit sich bringt.

Unsere Kenntnisse beschränken sich auf die wiederholt gemachte und bestätigte Beobachtung, daß in der Leber eines mit Phosphor vergifteten Tieres der gewöhnliche Glykogenvorrat verschwunden oder stark reduziert ist, und diese Tatsache wurde erklärt als bedingt durch den Hungerzustand, in welchem das Tier sich befindet, weil es im allgemeinen die Nahrungsaufnahme zu verweigern beginnt in dem Augenblick, in welchem die giftige Wirkung des Phosphors anfängt sich im Organismus fühlbar zu machen.

Diese zuerst von Saikowski[1]) gemachte Beobachtung wurde von Rosenbaum[2]), Luchsinger[3]) und Welsch[4]) bestätigt.

Auch die experimentellen Untersuchungen von Athanasiu[5]), Kaufholz[6]) und Mohr[7]) bestätigten die Glykogen-

[1]) Saikowski, Über die Fettmetamorphose der Organe nach innerem Gebrauche von Arsen-Antimon und Phosphorpräparaten. Virchows Archiv **34**, 1865.

[2]) Rosenbaum, Untersuchungen über den Kohlenhydratbestand des tierischen Organismus nach Vergiftung mit Arsenik, Phosphor usw. Inaug.-Diss. Dorpat 1879.

[3]) Luchsinger, Experimentelle und kritische Beiträge zur Physiologie und Pathologie des Glykogens. Inaug.-Diss. Zürich.

[4]) Welsch, Recherches sur la pathogénie des lésions anatomiques dans l'intoxication phosphorée. Arch. d. pharmacol. **14**, 1905.

[5]) Athanasiu, Die Erzeugung von Fett im tierischen Körper unter dem Einfluß von Phosphor. Arch. f. d. ges. Physiol. **74**, 1899.

[6]) Kaufholz, Über das Verhalten des Leberglykogens und Blutzuckers nach Phosphorvergiftung. Inaug.-Diss. Würzburg.

[7]) Mohr, Über das Verhalten der Kohlenhydrate im Körper phosphorvergifteter Tiere. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **1905**.

abnahme in der Leber infolge Behandlung mit Phosphor bei den Versuchstieren (Fröschen, Kaninchen, Ratten) und wiesen gleichzeitig nach, daß die Abnahme des Glykogens unabhängig ist von dem Hungerzustand, in welchem sich die nämlichen Tiere befinden, und daß sie in der Leber stärker ausgeprägt ist als in den anderen Organen.

Die hier folgenden Untersuchungen wurden von mir an der überlebenden Leber von Rana esculenta angestellt. Die Degeneration der Leber wurde hervorgerufen vermittels in einem Abstand von 2 bis 3 Tagen wiederholter Injektionen von sehr kleinen Phosphormengen. Gleichzeitig machte ich zahlreiche Experimente an der Leber normaler Frösche. Die herausgenommene Leber des Tieres wurde rasch in Ringerscher Flüssigkeit gewaschen, getrocknet, gewogen und dann ganz oder nach feiner Zerreibung mit Quarzsand in Ringersche Flüssigkeit gebracht, in der sie während einer variierenden Zeit gelassen wurde. Hierauf kochte ich sie in der nämlichen Ringerschen Flüssigkeit unter Zusatz eines Tropfens Essigsäure; es wurde ein wässeriges Extrakt hergestellt und in diesem der Zucker bestimmt, nach Fällung der Albuminoidstoffe. Der Zucker wurde mit der von Bang[1]) vorgeschlagenen Methode bestimmt.

Bei jedem Experiment wurde eine Kontrollprobe gemacht, indem ich sofort nach Entnahme einen der drei Lappen, in welche die Froschleber genau geteilt ist, kochte und den darin enthaltenen Zucker bestimmte. Bei einigen Experimenten wurde das Blut entfernt, entweder indem ich durch die Leber, sobald sie vom Tier getrennt war, Ringersche Flüssigkeit zirkulieren ließ, oder indem ich die erste Ringersche Flüssigkeit rasch darüber goß, nachdem ich die in Stückchen geschnittene Leber hineingebracht hatte.

Die Untersuchungen wurden angestellt an der Leber normaler Frösche und an der Leber von Fröschen, die chronisch mit Phosphor vergiftet und getötet wurden, wenn die charakteristischen Symptome der Vergiftung sich zeigten, denen kon-

---

[1]) Bang, Zur Methodik der Zuckerbestimmung. Diese Zeitschr. 49, 1913.

stant tiefgehende Erscheinungen von fettiger Entartung der inneren Organe und der Muskeln entsprechen: Fehlen spontaner Gehbewegungen, Fehlen der Fähigkeit zu hüpfen, auch wenn der Frosch stark gereizt wird, Unfähigkeit sich umzudrehen, wenn er auf den Rücken gelegt wird. Bei allen Versuchen wurde die histologische Untersuchung der Leber vorgenommen, um den Grad der anatomischen Veränderung festzustellen und so einen Vergleich zwischen diesem und der funktionellen Tätigkeit des Organs anstellen zu können.

Die Experimente wurden gemacht, indem ich in 25 bis 50 ccm Ringerscher Flüssigkeit zwei Leberlappen legte, die bald ganz, bald wieder fein mit Quarzsand zerrieben waren und eine verschiedene Zahl von Stunden hindurch, von 2 bis 24 Stunden, bei der Temperatur der Umgebung gelassen wurden. Hierauf wurde das Experiment unterbrochen, indem ich die Flüssigkeit, in der sich die Leber befand, kochte und in dem Extrakt, das ich daraus erhielt, den Zucker auf die oben angegebene Weise nach Fällung der Kolloide mit Kaolin bestimmte[1]). Die Temperatur schwankte in den Monaten März und April, der Zeit, während welcher die Experimente gemacht wurden, zwischen 14 und 20° C.

In einer ersten Reihe von Experimenten wurde untersucht, ob und in welchem Maße die in fettiger Entartung begriffene Leber imstande ist, Zucker zu bilden. Gleichzeitig mit diesen Versuchen wurden Untersuchungen an der normalen Leber angestellt, wobei ich Sorge dafür trug, daß ich das Material der ersten Gruppe von Untersuchungen und das der zweiten Gruppe den gleichen experimentellen Bedingungen unterzog. Der Kürze halber und um überflüssige Wiederholungen zu vermeiden, vereinige ich alle Resultate dieser Experimente in der Tabelle I Hier will ich nur das Protokoll von zwei Experimenten anführen, die mit Phosphor behandelte Frösche betreffen, und das von zwei Experimenten, die normale Frösche betreffen.

---

[1]) Die kleinen Proteinmengen, die stets bei den Desalbuminisierungen einer Flüssigkeit zurückbleiben, beeinträchtigen eine genaue Bestimmung des Zuckers; aber die sich aus diesem Umstand ergebenden leichten Unterschiede können für die Schätzung der Resultate keine Bedeutung haben.

15. Experiment.

Frosch, dessen Gewicht 28 g beträgt. In einer Woche wurden intramuskulär 2 Tropfen einer 1 % igen Phosphorlösung in Mandelöl injiziert. Am 4. April ist der Frosch nicht imstande, einen Sprung zu tun, auch wenn er an den hinteren Extremitäten stark gereizt wird; wird er auf den Rücken gelegt, so ist er nicht imstande sich umzudrehen. Er wird durch Enthaupten getötet und die Leber wird rasch herausgenommen, von der nach Unterbindung der rechte Lappen abgetragen wird. Alsdann wiege ich für sich den rechten Lappen nach Abtragung eines Bruchstückes, das in Flemmingsche Flüssigkeit gebracht wird, und den linken und mittleren Lappen miteinander.

Diese beiden Lappen werden in einem kleinen Mörser in Brei verwandelt, unter Zusatz einer sehr kleinen Menge Quarzsand. Dann wird der Brei in 50 ccm Ringerscher Flüssigkeit gebracht und man läßt ihn 8 Stunden lang digerieren; nach dieser Zeit setzt man einen Tropfen Essigsäure zu und läßt kochen. Der rechte Lappen wird, sobald er von der Leber getrennt ist, gewogen und in 50 ccm Ringerscher Flüssigkeit zum kochen gebracht. Von diesem, wie von den beiden anderen Lappen, stellt man einen Extrakt in Ringerscher Flüssigkeit her, indem man das Leberparenchym mit Quarzsand zerreibt. Dann wird eine kleine Menge Kaolin hinzugesetzt, um die Kolloide zu entfernen; man läßt die Flüssigkeit sich setzen und filtriert. Auf diese Weise erhält man ein klares Extrakt, das infolge Anwesenheit sehr kleiner Albuminoidmengen leicht opalisierend ist; man mißt genau und bestimmt nach der Bangschen Methode den Zucker in einem Teil des Extraktes.

Resultate.

Linker und mittlerer Lappen: Gewicht 0,667 g. Es wurden 80 ccm Extrakt erhalten. Bei 40 ccm Extrakt sind nach Kochen mit Kupfersulfat und darauf folgender Abkühlung unter Ausschluß der Berührung mit der Luft, um das gebildete Kupferoxyd zu sättigen, 1,1 ccm J $^{n}/_{100}$ erforderlich, was 0,4072 mg Zucker entspricht. Mithin sind im ganzen Extrakt, nämlich in 0,667 g Lebersubstanz, 0,8148 g Zucker, d. h. 1,222 ‰ enthalten.

Rechter Kontrollappen: Gewicht 0,249 g. Es werden 84 ccm Extrakt erhalten. Bei 42 ccm Extrakt sind nach Kochen mit Kupfersulfat und rascher Abkühlung unter Ausschluß der Berührung mit der Luft, um das gebildete Kupferoxyd zu sättigen, 0,4 ccm J $^{n}/_{100}$ erforderlich gleich 0,1482 mg Zucker. In 84 ccm Extrakt, die 0,249 g Leber entsprechen, sind 0,2964 mg Zucker enthalten, d. h. 1,19 g auf 1000 g Leber.

Bei der histologischen Untersuchung, die an dem von diesem Lappen abgetragenen und in Flemmingscher Flüssigkeit fixierten Bruchstück vorgenommen wurde, wird die Anwesenheit zahlreicher, von Osmiumsäure geschwärzter Fettkörnchen von verschiedenen Dimensionen konstatiert, die in allen Zellen des Parenchyms zerstreut sind; diffuse fettige Degeneration von mittlerer Intensität.

16. Experiment.

Mit Phosphor wie beim vorigen Experiment behandelter Frosch; Gewicht 25 g. Am 4. April enthauptete ich ihn und trage die Leber ab; der rechte und der mittlere Lappen werden, nachdem sie gewogen sind, in Brei verwandelt; ich lasse sie 8 Stunden lang in 50 ccm Ringerscher Flüssigkeit digerieren, dann kochen. Der linke Lappen, von dem ein Bruchstück in Flemmingsche Flüssigkeit gelegt wird, wird sogleich gekocht.

Rechter und mittlerer Lappen: Gewicht 0,463 g. Ich erhalte 84 ccm Extrakt. Bei 42 ccm werden nach Kochen und rascher Abkühlung unter Ausschluß der Berührung mit der Luft 0,45 ccm J $^{n}/_{100}$ gleich 0,1667 mg verwendet. In 84 ccm Extrakt, die der ganzen verwendeten Lebersubstanz entsprechen, sind also 0,3334 mg Zucker gleich 0,72 g pro Mille, enthalten

Linker Kontrollappen: Gewicht 0,139 g. Extrakt: 70 ccm. Bei 35 ccm werden 0,2 ccm J $^{n}/_{100}$ verwendet gleich 0,0741 mg Zucker. In 70 ccm, d. h. in 0,193 g Leber sind 0,1482 g Zucker, d. h. 0,7676 g pro Mille, enthalten.

1. Experiment.

Normaler Frosch; Gewicht 33 g. Ich enthaupte ihn und trage die Leber ab, die in die drei Lappen geteilt wird. Der rechte und der linke Lappen werden gewogen (0,631 g) und 16 Stunden lang bei einer Umgebungstemperatur von 14° C in Ringersche Flüssigkeit gelegt. Den mittleren Lappen lasse ich

sofort nach Abtragung von dem Tiere in Ringerscher Flüssigkeit kochen. Nach 16 Stunden werden die beiden ersten Lappen zerrieben und 80 ccm Extrakt gewonnen, in denen 10 mg Zucker angetroffen werden, was 15,82 g Zucker auf 1000 g Leber entspricht. In dem aus dem mittleren (Kontroll-) Lappen erhaltenen Extrakt finden sich 0,2 mg Zucker, mithin 0,606 g pro Mille.

32. Experiment.

Normaler Frosch; Gewicht 27 g. Ich enthaupte ihn und trage rasch die Leber ab, von der der rechte Lappen getrennt wird. Dann werden der linke und der mittlere Lappen zusammen gewogen, in Brei verwandelt und 5 Stunden lang bei der Umgebungstemperatur von 20° C in 50 ccm Ringerscher Flüssigkeit mit Zusatz von Toluol gelassen. Hierauf wird das Experiment unterbrochen, indem ich den Brei kochen lasse; in dem daraus erhaltenen Extrakt finden sich 7,037 mg Zucker. Die verwendete Lebermenge wog 0,387 g, mithin hat eine 17,77 g pro Mille Leber entsprechende Zuckerbildung stattgefunden. Im Extrakt des rechten Kontrollappens, den ich sofort nach Abtragung vom Tiere kochen ließ, finden sich 0,4444 mg Zucker.

Die Resultate aller Experimente sind auf Tabelle I zusammengestellt. Auf ihr ist die Dauer in Stunden des an zwei Leberlappen ausgeführten Experiments angegeben, ferner das Gewicht dieser beiden Lappen und der am Ende des Experiments angetroffene Zucker, der auf 1000 g Leber bezogen ist. Dieselben Daten ergeben sich für den Kontrollappen, den ich sofort nach Abtragung vom Tiere kochen ließ, und aus dem die in der Leber selbst präexistierende Zuckermenge, die ebenfalls in der Tabelle auf 1000 g Leber bezogen ist, entnommen wurde.

Das Zeichen + in der letzten Kolumne dieser Tabelle und der folgenden gibt den histologischen Befund der Leber an, der für die fettige Degeneration positiv ist; die Wiederholung des Zeichens gibt die Intensität des degenerativen Prozesses an. So entspricht einem einzigen +-Zeichen die Anwesenheit von sehr spärlichen und sehr feinen Fettkörnchen, also ein leichter Grad fettiger Entartung; dasselbe fünfmal wiederholte Zeichen bedeutet die Anwesenheit sehr zahlreicher

Fettkörnchen von verschiedener Dimension, so daß sie einen großen Teil der Leberzelle einnehmen, also ein schwereres und weiter vorgeschrittenes Stadium des degenerativen Prozesses.

Tabelle I.

Nummer des Experiments	Dauer	Lebersubstanz		Kontrolle, gekochte Lebersubstanz		Histologischer Befund der Leber, fettige Entartung
	Stdn.	Gewicht g	Zucker ‰ der Leber	Gewicht g	Zucker ‰ der Leber	
3	18	0,512	2,155	0,124	1,794	++
12	8	0,339	1,3	0,231	0,941	+
13	8	0,319	0,877	0,199	0,9306	++
14	8	0,258	1,436	0,130	1,424	++
15	8	0,667	1,222	0,249	1,19	++++
16	8	0,463	0,72	0,193	0,7676	++
17	16	0,429	0,6907	0,163	1,136	+++
18	24	0,373	0,7944	0,211	0,8777	+
1	16	0,631	15,82	0,330	0,606	normal
2	8	0,571	17,01	0,285	2,43	„
4	18	0,366	18,43	0.198	2,62	„
5	8	0,450	13,75	0,227	4,568	„
6	6	0,762	13,02	0,479	3,608	„
7	6	0,550	20,95	0,343	3,15	„
8	6	0,220	3,02	0,163	1,28	„
10	4	0,320	12,19	0,205	2,168	„
29	2	0,352	10,55	0,201	1,106	„
30	2	0,294	4,535	0,123	1,483	„
31	5	0,253	11,18	0,126	1,746	„
32	5	0,387	17,77	0,236	1,88	„

Aus der Tabelle I ersieht man, daß die Zuckerbildung in der in fettiger Entartung begriffenen Froschleber gleich Null ist; der in der Leber bei diesen Untersuchungen angetroffene Zucker schwankt zwischen 0,69 und 2,15 pro Mille, d. h. in denselben Grenzen, innerhalb welcher der in derselben Leber präformierte Zucker im Augenblick des Beginns der betreffenden Experimente schwankt. Ein vergleichendes Datum bezüglich des Grades fettiger Entartung der Leber und des glykogenen Vermögens der letzteren läßt sich wegen derselben Gleichförmigkeit von negativen Resultaten sowohl in Fällen, die wenig von Degenerationsprozessen ergriffene Lebern betreffen (wie bei den Experimenten 3, 12, 18, 19), als auch in Fällen, in denen die durch den degenerativen Prozeß der Zellen bedingten histologischen Veränderungen erheblich sind (wie in den Experimenten 15 und 16), nicht entnehmen.

Zum richtigen Verständnis dieser Resultate ist jedoch erforderlich, die Daten zu berücksichtigen, die uns durch die an normalen Fröschen angestellten Untersuchungen geliefert werden.

Aus diesen Daten ersehen wir, daß die normale Froschleber, die man einige Stunden lang in Ringerscher Flüssigkeit digerieren läßt, die Bildung einer mäßigen Zuckermenge veranlaßt, die gewiß, wenn auch nicht ausschließlich (siehe Emden), von dem in ihr vorhandenen Glykogen herstammt.

Die Zuckermenge schwankt in den von mir ausgeführten Experimenten zwischen einem Maximum von 20,95 g und einem Minimum von 4,25 g pro Mille Leber. Es ist klar, daß die einzelnen Resultate nicht in direkten Zusammenhang mit der Dauer der Verdauung gebracht werden können, weil uns die Kenntnis eines sehr wichtigen Datums fehlt, nämlich der tatsächlich in jeder Leber im Augenblick des Beginns der Experimente vorhandenen Glykogenmenge. Man kann in jedem Falle behaupten, daß die normale Leber imstande ist, die Zuckerbildung zu veranlassen, wenn sie geeigneten experimentellen Bedingungen ausgesetzt wird und diese Bildung das Ergebnis einer Enzymtätigkeit ist, was aus dem Unterschied hervorgeht, der in jedem Experiment zwischen der nach der Verdauung angetroffenen Zuckermenge und der bei den mit gekochter Leber angeführten entsprechenden Kontrollen vorgefundenen besteht.

Bei diesen letzteren ist die Zuckermenge minimal und kann, wenigstens zum Teil, als dem in der Leber im Moment des Beginns der Experimente präexistierenden Zucker entsprechend, betrachtet werden. In dieser Hinsicht muß bemerkt werden, daß die in der Leber präexistierende Zuckermenge so spärlich[1]) und die Menge Lebersubstanz, an der die Bestimmung ausgeführt wird, so winzig ist, daß die bei den verschiedenen Analysen angetroffenen Schwankungen reduziert werden müssen, wenn man sich einen approximativeren genaueren Begriff von der tatsächlich vorhandenen Zuckermenge machen will.

Ebenso verhält es sich mit den Zuckerbestimmungen in der in fettiger Degeneration begriffenen Leber, bei denen, wie sich aus Tabelle I und dem Protokoll der beiden ausführlich geschilderten Experimente ergibt, die Zuckermenge sehr spär-

[1]) Bang, diese Zeitschr. **49**, 1913.

lich und ganz unberücksichtigt bleiben kann, sowohl bei der Kontrolle (präexistierender Zucker) als nach der Verdauung. Daraus ergibt sich als notwendige Folge, daß die die Experimente mit Verdauung der normalen Leber betreffenden großen Unterschiede, die in den Resultaten angetroffen werden, der Erscheinung entsprechen und eine genaue Vorstellung von der Fähigkeit und Intensität, mit welcher sie sich abspielt, geben.

Das Fehlen von Zuckerbildung in der in fettiger Entartung begriffenen Leber kann offenbar von zwei Faktoren abhängen, nämlich davon, daß die mit Phosphor vergiftete Leberzelle die Fähigkeit, Zucker zu bilden, verliert, oder daß das Material, aus dem der Zucker unter normalen Verhältnissen in der Leber entsteht, d. h. das Glykogen, fehlt.

Die Beobachtungen von Saikowski, Luchsinger, Welsch, auf die oben hingewiesen wurde, haben ganz klar nachgewiesen, daß in der in fettiger Entartung begriffenen Leber der Glykogenvorrat mehr oder minder erheblich reduziert wird, und die Untersuchungen von Athanasiu, Kaufholz, Mohr haben ebenfalls bestätigt, daß die Reduzierung des Glykogenvorrats in Beziehung zur Vergiftung der Leberzelle steht. Mithin verhindert dieser Faktor, nämlich das Verschwinden oder die Glykogenreduzierung in der in fettiger Entartung begriffenen Leber, daß man von vornherein irgendwelche Schätzungen hinsichtlich der obenerwähnten Hypothesen anstellt, d. h. hinsichtlich der größeren oder geringeren Fähigkeit der in fettiger Entartung begriffenen Leberzelle, Zucker zu bilden.

Um diesen Punkt aufzuklären, unternahm ich eine Reihe von Untersuchungen, indem ich dem in Ringersche Flüssigkeit zum Verdauen gebrachten Leberbrei kleine Glykogenmengen zusetzte. Die Experimente wurden an normalen und an phosphorvergifteten Fröschen durchgeführt. Das Glykogen war in Ringerscher Flüssigkeit aufgelöst und wurde dem Leberbrei in verschiedenen Mengen zugesetzt, wie sich aus der Tabelle II ergibt, auf der die erhaltenen Resultate angegeben sind.

In allen diesen Experimenten wurden bei jeder Leber drei Proben angestellt, und zwar:

1. eine Probe mit einem Leberlappen, der eine bestimmte Zahl von Stunden in Ringerscher Flüssigkeit gelassen wurde, ohne Zusatz von Glykogen;

2. eine Probe mit einem anderen Lappen derselben Leber, der denselben Versuchsbedingungen ausgesetzt wurde, unter Zusatz einer bestimmten Glykogenmenge;

3. eine dritte Probe mit dem dritten Lappen der Leber, den ich sofort nach der Abtragung vom Tiere kochen ließ, um den präexistierenden Zucker zu bestimmen.

Die Dauer der Experimente schwankte zwischen 2 und 24 Stunden, die Temperatur zwischen 16 und 20° C; das verwendete Glykogen war zuckerfrei von der Firma Merck geliefert.

Ich bringe nur die Resultate einiger Experimente zur Erklärung, statt alle anzuführen; sie sind in Tabelle II zusammengestellt.

24. Experiment.

Normaler Frosch, 19 g schwer. Von den drei Leberlappen wiegt der rechte 0,152 g; er wird in Brei verwandelt und zum Verdauen in 25 cem Ringerscher Flüssigkeit gebracht; dasselbe geschieht mit dem mittleren, der 0,124 g wiegt, aber die Ringersche Flüssigkeit enthält 0,0625 g Glykogen. Die Dauer des Experimentes beträgt 8 Stunden bei der Temperatur von 20°. Die Verdauung wird unterbrochen, indem ich die beiden Breie kochen lasse.

Der linke Lappen wiegt 0,150 g; ich koche ihn, sobald er vom Tier abgetragen ist. Aus allen drei Lappen bereite ich, wie gewöhnlich, das wässerige Extrakt.

Resultate.

1. Rechter Lappen: am Ende des Experiments enthält er 1,848 mg Zucker, d. h. eine Menge von 12,16 g pro Mille Leber.

2. Mittlerer Lappen: am Ende des Experiments enthält er 5,332 mg Zucker, die 43,01 g pro Mille Leber entsprechen.

3. Linker Lappen: im Extrakt werden 0,2592 g Zucker angetroffen, die 1,728 g pro Mille Leber entsprechen.

20. Experiment.

Chronisch mit Phosphor vergifteter Frosch; Gewicht 22 g. Die Leberlappen werden für das Experiment wie beim vorigen Frosche präpariert.

Linker Lappen: Gewicht 0,241 g. Er wird in Brei verwandelt und ich lasse ihn 8 Stunden lang in 25 ccm Ringerscher Flüssigkeit bei der Umgebungstemperatur von 20°. Im

Extrakt werden 0,2593 mg Zucker bestimmt, die 1,076 g pro Mille Leber entsprechen.

Mittlerer Lappen: Gewicht 0,225 g. Er wird in Brei verwandelt und wie der vorige Lappen 8 Stunden lang in 25 ccm Ringerscher Flüssigkeit gelassen, die 0,0625 g Glykogen enthält. Im Extrakt werden 3,916 mg Zucker bestimmt, die 17,45 g pro Mille Leber entsprechen.

Rechter Lappen: Gewicht 0,154 g. Sobald er vom Tier abgetragen ist, lasse ich ihn in 25 ccm Ringerscher Flüssigkeit kochen. Im Extrakt werden 0,111 mg Zucker bestimmt, die 0,7215 g pro Mille Lebersubstanz entsprechen.

Aus dem rechten Lappen wird, ehe er gewogen wird, ein Stückchen Substanz abgetragen, das in Flemmingscher Flüssigkeit fixiert wird; bei der histologischen Untersuchung wird diffuse fettige Entartung von mittlerer Intensität angetroffen.

27. Experiment.

Mit Phosphor behandelter Frosch; Gewicht 18 g. Ich enthaupte ihn und trage die Leber ab. Hierauf werden die drei Lappen wie beim vorigen Experiment behandelt. Die Verdauungsprobe wird mit der in Brei verwandelten Leber gemacht und 15 Stunden lang bei der Temperatur von 19° fortgesetzt.

1. Mittlerer Lappen: Gewicht 0,170 g. Der Brei wird in 25 ccm Ringersche Flüssigkeit gebracht und es finden sich 0,1852 mg Zucker, die 1,092 g pro Mille Leber entsprechen.

2. Rechter Lappen: Gewicht 0,136 g. Der Brei wird mit 15 ccm Ringerscher Flüssigkeit versetzt, der 10 ccm einer 0,25 $^0/_0$igen Glykogenlösung in Ringerscher Flüssigkeit zugesetzt werden, die 0,025 mg Glykogen entsprechen. Am Ende des Experiments werden in dem daraus erhaltenen Extrakt 3,333 mg Zucker bestimmt, die 24,51 g pro Mille Leber entsprechen.

3. Linker Lappen: Gewicht 0,195 g. Sobald er dem Tiere entnommen ist, lasse ich ihn kochen und finde im Extrakt 0,2222 mg Zucker, die 1,14 g pro Mille Lebersubstanz entsprechen.

Aus der Tabelle II ergibt sich, daß die normale Leber, wenn sie unter aseptischen Bedingungen in Kontakt mit Glykogen der Verdauung ausgesetzt wird, imstande ist, einen Teil

des letzteren in Zucker umzuwandeln. In jedem der durchgeführten Experimente ist nämlich die in den Proben, bei denen Glykogen zugesetzt worden war, gefundene Zuckermenge größer als der Zucker, der bei den anderen Proben, bei denen kein Glykogen zugesetzt worden war, angetroffen wurde. In ersteren beträgt sie 14,65 bis 53,36 pro Mille Leber, während sie bei letzteren 6,44 bis 16,89 beträgt.

Tabelle II.

Nummer des Experiments	Dauer	Lebersubstanz		Lebersubstanz mit Glykogenzusatz			Kontrolle, gekochte Lebersubstanz		Histologischer Befund der Leber, fettige Entartung
	Std.	Gewicht g	Zucker ‰ der Leber	Gewicht g	zugesetztes Glykog. g	Zucker ‰ der Leber	Gewicht g	Zucker ‰ der Leber	
20	8	0,241	1,076	0,255	0,0625	17,55	0,154	0,7215	++
21	8	0,201	0,7371	0,253	0,0625	13,76	0,137	0,5404	++++
22	8	0,211	0,8777	0,241	0,0625	34,12	0,135	0,823	++
23	8	0,254	1,167	0,172	0,0625	48,48	0,135	0,56	+++++
26	15	0,210	1,121	0,214	0,025	9,69	0,207	0,8946	+++
27	15	0,170	1,092	0,136	0,025	24,51	0,195	1,14	+++
33	2	0,239	1,147	0,329	0,0625	4,27	—	—	+
34	2	0,252	1,47	0,275	0,0625	9,42	—	—	++++
35	3	0,157	2,359	0,147	0,025	11,09	0,145	1,022	
38	8	0,121	1,837	0,095	0,025	15,6	0,086	1,723	+
41	16	0,121	1,755	0,109	0,025	23,19	0,068	2,179	++
24	8	0,152	12,16	0,124	0,0625	43,01	0,150	1,728	normal
25	8	0,177	7,533	0,177	0,0625	53,36	0,154	2,1	"
28	15	0,233	16,53	0,295	0,025	29,89	0,196	2,649	"
39	10	0,297	11,22	0,173	0,025	23,27	0,268	1,382	"
42	20	0,157	16,89	0,113	0,025	21,96	0,113	0,5827	"
43	24	0,145	6,444	0,177	0,025	14,65	0,099	0,7482	"

In den Kontrollproben, bei denen die Leber sofort nach Abtragung von dem Tiere gekocht wurde, wird eine nicht in Anschlag zu bringende Zuckermenge angetroffen, die zwischen 0,5 und 2,6 pro Mille schwankt.

In der in fettiger Entartung begriffenen Leber wird auch dieselbe Zuckermenge in den entsprechenden Proben angetroffen; auch hier schwankt nämlich der präexistierende Zucker von 0,5 bis 2 pro Mille. Ferner entsprechen die Resultate der Leberproben, in denen kein Glykogen zugesetzt wurde, denen der auf Tabelle I angeführten der ersten Untersuchungen, die beweisen, daß keine Zuckerbildung auftritt. In den Proben jedoch, in denen Glykogen zugesetzt wurde, wird die Anwesen-

heit einer erheblichen Zuckermenge konstatiert, die von 9,69 bis 48,48 pro Mille Leber schwankt, also in einer Menge, die derjenigen ungefähr gleich ist, die in der den gleichen experimentellen Bedingungen ausgesetzten normalen Leber angetroffen wird.

Ferner ergibt sich aus den geschilderten Experimenten nicht, daß der Grad der Degeneration, in dem sich die Leber befindet, in irgendeiner Beziehung zu der von ihr entfalteten glykogenerzeugenden Tätigkeit steht. Um sich davon zu überzeugen, genügt es, die Resultate der Experimente 21 und 22 zu vergleichen, in denen in einem gleichen Zeitabschnitt ungefähr gleiche Lebermengen in einem Falle (21. Experiment) eine viel geringere Zuckermenge als die im 22. Experiment angetroffene ergaben, obgleich in diesem letzteren die histologischen Veränderungen des Leberparenchyms deutlicher zutage traten.

Aus diesen Resultaten ergibt sich indessen klar, daß das Fehlen von Zuckerbildung in der in fettiger Entartung begriffenen Leber, wie es in der ersten Reihe von Untersuchungen (siehe Tabelle I) konstatiert wurde, von dem Mangel an Glykogen abhängt.

Es ergibt sich ferner aus diesen Untersuchungen, daß der Mangel an Glykogen nicht von dem Hungerzustand, in dem sich die Tiere befinden, abhängen muß, weil diese während der Untersuchungen alle, sowohl die normalen als die mit Phosphor behandelten Frösche, in Gefäßen gehalten wurden, die eine dünne Schicht von täglich erneuertem Wasser enthielten.

Da also die fortdauernde Fähigkeit der Leber vorhanden ist — auch wenn sie die anatomischen Anzeichen einer intensiven fettigen Entartung zeigt —, das Glykogen in Zucker umzuwandeln, bleibt es noch im Zweifel, ob die Abwesenheit von Glykogen entweder durch die Unfähigkeit auf seiten der Leber, Glykogen zu bilden, oder durch die Unmöglichkeit, es, nachdem es gebildet ist, aufzuspeichern, bedingt ist. Diese Frage soll das Thema weiterer Untersuchungen sein.

Zusammenfassung.

1. Die isolierte Froschleber ist imstande, aus dem Glykogen, das sie enthält, Zucker zu bilden.

2. Die in fettiger Degeneration begriffene Leber verliert ihren Glykogenvorrat, und bei Versuchen über Glykogenentstehung fehlt also das zur Zuckerbildung nötige Material.

3. Die in fettiger Entartung sich befindende Froschleber produziert keinen Zucker, wenn sie denselben Bedingungen wie eine normale Leber ausgesetzt wird.

4. Dies ist nicht durch das Fehlen von Fermenten bedingt, denn wenn man bei fettiger Entartung dem Leberbrei Glykogen hinzusetzt, erfolgt die Hydrolyse dieses Kohlenhydrats wie bei der normalen Leber.

5. Auch aus diesen Untersuchungen läßt sich also schließen, daß in der in fettiger Degeneration begriffenen Leber der Glykogenvorrat fehlt, wie Saikowski, Rosenbaum, Athanasiu, Kaufholz u. a. durch direkte Bestimmungen gefunden hatten.

6. Das Fehlen von Glykogen in der in fettiger Entartung begriffenen Leber hängt nicht so sehr vom Hungerzustand ab wie vom Vergiftungszustand, in dem sich die Leber infolge Einwirkung des Phosphors befindet.

7. Die Leber chronisch mit Phosphor vergifteter Tiere verliert nicht die Fähigkeit, Zucker zu bilden.

8. Diese Fähigkeit erscheint vielmehr auch in den Fällen nicht abgeschwächt, in denen die histologischen Anzeichen einer intensiven fettigen Entartung der Leberzellen vorhanden sind.

Zur Kenntnis einiger Formaldehydreaktionen.

Von

E. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 16. November 1914.)

Bei meinen Arbeiten über die Aldehydbildung durch Kaliumpermanganat in saurer Lösung[1]) hatte ich Veranlassung, mich mit den Farbenreaktionen des Formaldehyds etwas eingehender zu beschäftigen. Im folgendem teile ich die dabei gemachten Erfahrungen mit.

1. Die Reaktion nach Leach[2]).

Die übliche Vorschrift zur Anstellung der Reaktion geht dahin, daß man die auf Formaldehyd zu prüfende Flüssigkeit mit Milch vermischt, einige Tropfen verdünnter Lösung von Eisenchlorid hinzusetzt, dann das gleiche Volumen (bezogen auf das ganze Gemisch) Salzsäure von 1,19 D. und nun entweder im Reagensglas oder in einem Schälchen auf dem Drahtnetz erhitzt: Violettfärbung beweist die Gegenwart von Formaldehyd.

In der Anwendung von Milch liegt eine gewisse Unbequemlichkeit: sie ist nicht immer zur Hand. Ich sagte mir, daß die Vorschrift, Milch anzuwenden, vielleicht nur darauf beruht, daß die Reaktion zuerst zur Auffindung von Formaldehyd in Milch angewendet worden ist. Wenn man überlegt, auf welchen Bestandteil der Milch die Reaktion wohl zurückzuführen sei, so liegt es am nächsten, an die Eiweißkörper der Milch zu denken. Der Versuch bestätigte dies auch bald. Die Reaktion

---

[1]) Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 28, 226, 1914 und diese Zeitschr. 67, 349.

[2]) Ich bemerke, daß die Benennung der Formaldehydreaktionen in der Literatur keine ganz feststehende ist.

geht ebenso gut mit aus Casein dargestellter Albumose. Es ist auch gar nicht einmal nötig, diese anzuwenden, jede Albumose tut dieselben Dienste.

Ich rate die Reaktion folgendermaßen anzustellen. Man löst in der im Reagensglas befindlichen auf Formaldehyd zu prüfenden Flüssigkeit — etwa 8 ccm — eine kleine Spatelspitze Witte-Pepton unter Umschütteln und Erwärmen auf, setzt 3 bis 4 Tropfen 3%ige Eisenchloridlösung zu, dann zu der etwas trüben Flüssigkeit etwa das halbe Volumen Salzsäure von 1,19 und erhitzt zum Sieden: es tritt dann bald eine allmählich mehr und mehr zunehmende gesättigte Violettfärbung auf, die später mehr in Blaufärbung übergeht[1]). Zu langes Erhitzen scheint die Schönheit der Reaktion zu beeinträchtigen. Sehr angenehm ist, daß die Reaktion nicht vergänglich ist, wie mehr oder weniger die sonst gebräuchlichen Farbenreaktionen: sie hielt sich tagelang, ja monatelang unverändert[2]). Der Farbstoff geht nicht in Amylalkohol über, auch nicht in Äther, Essigäther, Chloroform, Benzol. Die Unveränderlichkeit der Färbung legt den Gedanken nahe, die Reaktion zu einer colorimetrischen Bestimmung des Formaldehyds zu verwerten.

Nicht immer verläuft die Reaktion genau so wie angegeben, die Erscheinungen sind vielfach abhängig von der Konzentration der Formaldehydlösung. Bei sehr geringem Gehalt an Formaldehyd tritt unter Umständen nur eine rötliche Verfärbung ein, es empfiehlt sich in diesem Falle, etwas von der Reaktionsmischung in ein zu einem Drittel mit Wasser gefülltes Reagensglas zu gießen: es tritt dann die blauviolette Färbung mehr hervor, vermutlich weil dadurch der störende Einfluß der Farbe des Eisenchlorids beseitigt oder doch abgeschwächt wird.

Statt des Eisenchlorids kann man auch Wasserstoffsuperoxyd anwenden. Das Eisenchlorid wirkt also nur als Oxyda-

[1]) Nachträglich habe ich aus der Arbeit von L. Rosenthaler: „Über die oxydative Entstehung von Formaldehyd und Acetaldehyd" (Arch. d. Pharm. 251, 587, 1914) ersehen, daß eine ähnliche Reaktion als Hehner-Leonardsche bekannt ist: „Blaufärbung mit Eiweiß und eisenhaltiger konzentrierter Schwefelsäure, als Zonenreaktion ausgeführt."

[2]) Bei stärkeren Formaldehydlösungen kann die Reaktion versagen, zur Demonstration empfiehlt sich eine Formaldehydlösung in der Konzentration von 1 : 50000, auf die sich die oben gegebene Beschreibung des Ablaufs der Reaktion bezieht.

tionsmittel, indessen hat die Anwendung von H_2O_2 den Nachteil, daß der Farbstoff bald durch weitere Oxydation verschwindet oder doch verblaßt. Will man H_2O_2 anwenden, so tut man gut, es ganz zuletzt, also erst nach der Salzsäure hinzuzusetzen, und zwar vorsichtig einige Tropfen des $3\,^0/_0$igen.

Die Vorzüge der angegebenen Modifikation scheinen mir darin zu liegen, daß die nötigen Materialien stets zur Hand sind, ferner darin, daß die zu prüfende Flüssigkeit keine Verdünnung durch die zugesetzte Milch erfährt, endlich in der Haltbarkeit der Reaktion.

Die Empfindlichkeit der Reaktion ist eine ganz außerordentliche. Selbst in einer Verdünnung von eins zu einer Million ist der Formaldehyd (natürlich nur in reinen Lösungen) noch sehr gut zu erkennen, während die Reaktion nach Rimini und die etwas feinere von Schrywer bei dieser Verdünnung versagt.

Es fragt sich nun, inwieweit die Reaktion charakteristisch ist. Dabei kommt in erster Linie der Acetaldehyd in Betracht.

Stellt man dieselbe Reaktion mit einer wässerigen Lösung von Acetaldehyd an, so färbt sich die Mischung beim Erwärmen, je nach der Konzentration des Acetaldehyds, mehr oder weniger bräunlich, ja bei auffallendem Licht betrachtet, selbst schwärzlich[1]), niemals aber tritt ein violetter Ton auf, auch nicht beim Verdünnen der Probe. Eine Verwechslung mit Acetaldehyd ist also ganz ausgeschlossen, dagegen ist es nach dem beschriebenen Verhalten des Acetaldehyds klar, daß derselbe die Reaktion stören kann. In einem Gemisch gleicher Volumina einer Lösung von $0{,}2\,^0/_{00}$ Formaldehyd und $6\,^0/_{00}$ Acetaldehyd (durch Titrieren mit $^n/_{10}$-Jodlösung festgestellt) ist Formaldehyd durch die Reaktion nach Leach in der angegebenen Ausführungsform nicht mehr sicher zu erkennen,

Die Frage, ob nicht andere mit Wasserdämpfen flüchtige Körper dieselbe oder eine ähnliche Reaktion geben können, ist natürlich im ganzen Umfange nicht zu beantworten, eine bei der Untersuchung der Oxydationsdestillate des Zuckers gemachte Beobachtung gab mir indessen Veranlassung, auf einen

[1]) Ich möchte dieses Verhalten nicht gerade als Reaktion auf Acetaldehyd empfehlen, indessen kann es unter Umständen wohl zur Unterstützung dienen.

solchen Körper zu fahnden. In dem Oxydationsdestillat aus Rohrzucker[1]) (2 g Rohrzucker, 2 g $KMnO_4$, 100 ccm Wasser, 50 ccm verdünnte Schwefelsäure [200 g aufgefüllt zu 1 l], 100 ccm abdestilliert) fand ich nämlich die Reaktion nach Leach auffallend stark gegenüber der Reaktion nach Rimini, während dieses bei dem gleichen Destillat aus Traubenzucker nicht der Fall war.

Nun habe ich vor längerer Zeit angegeben[2]), daß beim Destillieren von Zuckerarten mit verdünnten Säuren ein „ketonartiger“ Körper auftritt, der Jodoformreaktion gibt. Die Erscheinung interessierte mich damals nur vom analytischen Standpunkt aus, insofern sie bei der Untersuchung von Harn auf Aceton zu Irrtümern Veranlassung geben kann, wenn man sich bei der Untersuchung auf Aceton auf die Jodoformbildung im Destillat allein verläßt, da man unter Umständen — bei zuviel Säure und zu weitem Destillieren — auch aus normalem Harn ein Destillat erhält, das Jodoformbildung zeigt, abhängig von den Kohlenhydraten des Harns. Ebenso können natürlich Fehler bei der quantitativen Bestimmung des Acetons im diabetischen Harn entstehen. Es lag nahe, anzunehmen, daß dieser Körper ω-Oxymethylfurfurol sei, auf das die Reaktion der Kohlenhydrate mit α-Naphthol und konzentrierter Schwefelsäure zurückgeführt wird[3]).

Nach den Versuchen von Alberda van Ekenstein und Blanksma[4]) bildet sich ω-Oxymethylfurfurol besonders reichlich aus Fructose bzw. Rohrzucker. Ich vermutete daher, daß in den Oxydationsdestillaten aus Rohrzucker mehr Oxymethylfurfurol enthalten sei, als in denen aus Traubenzucker, und daß das Oxymethylfurfurol die Reaktion nach Leach gebe. Diese Vermutungen haben sich bestätigt.

Es wurden zunächst, entsprechend meinen früheren Ver-

---

[1]) Es wurde Rohrzucker des Handels angewendet, um vor Spuren von Alkohol sicher zu sein, die dem aus einer chemischen Fabrik bezogenen Rohrzucker möglicherweise anhängen konnten.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **14**, 476, 1890 und Arch. f. d. ges. Physiol. **56**, 339, 1894. F. N. Schulz schreibt in Neubauer-Huppert, Harnanalyse, 11. Aufl., S. 257, diese Beobachtung mit Unrecht L. Borchardt zu, während dieser selbst mich als Autor für dieselbe zitiert hat.

[3]) Reicher und Stein, diese Zeitschr. **37**, 328, 1911.

[4]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **43**, 2355, 1910.

suchen, 10 g Rohrzucker mit 200 ccm Salzsäure (von 1,126 D.) und 200 ccm Wasser destilliert, 200 ccm abdestilliert.

Das Destillat gab mit Jodjodkaliumlösung und Natronlauge reichlich Jodoform, mit Resorcin + starker Salzsäure Rotfärbung, mit Diphenylamin + Salzsäure beim Kochen Blaufärbung, mit α-Naphthol + konzentrierter Schwefelsäure Violettfärbung; konzentrierte Salzsäure mit etwas Destillat versetzt färbte sich beim Schütteln mit Sesamöl rot — alles Reaktionen, die nach Ekenstein und Blanksma dem Oxymethylfurfurol zukommen. Dieses Destillat gab nun auch intensive Reaktion nach Leach in der von mir vorgeschlagenen Ausführungsform. Es sei hier auch das Verhalten zu anderen gebräuchlichen Formaldehydreaktionen erwähnt, die weiter unten besprochen werden sollen.

1. Rimini: Orangefärbung.
2. Schrywer: Rotfärbung, noch Gelbfärbung ziehend.
3. Bono: Orangefärbung schnell gelb werdend, Trübung.

Alle Reaktionen sind indessen wenig ausgeprägt.

Zur weiteren Sicherung des Befundes wurden nun noch nach dem auch von Ekenstein und Blanksma benutzten Verfahren von Kiermayer[1]) 100 ccm einer 30%igen wässerigen Rohrzuckerlösung mit 0,3 Oxalsäure 3 Stunden bei 3 Atmosphären erhitzt. Die von harzigen Massen abfiltrierte Flüssigkeit wurde auf 150 ccm aufgefüllt, davon 100 ccm abdestilliert.

Das Destillat gab die Reaktionen auf Oxymethylfurfurol in intensivster Weise und ebenso intensiv die Reaktion nach Leach.

Bezüglich des Verhaltens zu anderen Formaldehydreaktionen kann auf das oben Gesagte verwiesen werden, die Reaktionen waren entsprechend dem größeren Gehalt an Oxymethylfurfurol stärker. Mit der Grosse-Bohleschen Lösung trat ganz allmählich eine Andeutung von Violettfärbung ein.

Es blieb nun noch übrig, den Nachweis zu führen, daß auch unter den bei den Oxydationsversuchen eingehaltenen Bedingungen resp. Verhältnissen Oxymethylfurfurol in merklicher Menge entsteht.

Zu dem Zweck wurden zunächst 2 g Rohrzucker mit 100 ccm Wasser und 50 ccm verdünnter Schwefelsäure ohne

---

[1]) Chem.-Zeitg. 1895, 1004.

$KMnO_4$ destilliert, 100 ccm abdestilliert. Das Destillat gab die angeführten Reaktionen auf Oxymethylfurfurol nicht gerade stark, aber unzweifelhaft. Betreffs der Formaldehydreaktionen sei folgendes bemerkt: 1. Leach positiv, besonders deutlich beim Eingießen in Wasser, 2. Rimini negativ, 3. Schrywer gelbrot, 4. Bono blaßviolett, schnell schwächer werdend.

Auch das Oxydationsdestillat von Rohrzucker (mit 2 g $KMnO_4$) gab Reaktionen auf Oxymethylfurfurol, wenn auch nicht so deutlich, vielleicht gestört durch die Anwesenheit anderer Produkte der Oxydation; in dem Oxydationsdestillat des Traubenzuckers war dagegen kein Oxymethylfurfurol nachweisbar, nur die Reaktion mit Naphthol und konzentrierter Schwefelsäure war andeutungsweise vorhanden.

Damit ist erwiesen, daß die Differenzen in dem Ausfall der Reaktionen nach Leach einerseits, nach Rimini andererseits in dem Oxydationsdestillat des Rohrzuckers gegenüber dem aus Traubenzucker auf dem Gehalt des ersteren an Oxymethylfurfurol beruht; man wird danach bei Benutzung der Reaktion nach Leach die Tatsache, daß sie auch von Oxymethylfurfurol herrühren kann, unter Umständen im Auge behalten müssen.

2. Die Reaktion nach Rimini.

Bezüglich dieser habe ich nur zu bemerken, daß sie ebensogut wie mit Eisenchlorid auch mit H_2O_2 gelingt, ja, die Anwendung desselben hat den Vorzug, daß die Rotfärbung haltbar ist: während die Reaktionsflüssigkeit bei Anwendung von Eisenchlorid am nächsten Tage gelb oder grüngelb[1]) aussieht, bleibt sie bei Anwendung von H_2O_2 in kleiner Menge unverändert. Nur bei sehr dünnen Formaldehydlösungen tritt allmählich Trübung ein, die rote Färbung bleibt aber unverändert. Die Reaktion ist ferner bei Anwendung von H_2O_2 empfindlicher als bei Anwendung von Ferrichlorid. Man stellt sie zweckmäßig so an, daß man erst ganz zum Schluß einige Tropfen des $3\,^0/_0$igen H_2O_2 hinzusetzt, also erst etwa 1 ccm Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin, dann Salzsäure, dann H_2O_2. Die Reaktion entwickelt sich langsamer

[1]) Das erstere bei reinem Formaldehyd, das letztere in der Regel bei der Oxydationsdestillation.

als bei Anwendung von Eisenchlorid. Sie gelingt eben noch in einer Verdünnung von 1:500000, ist dabei aber doch nicht mehr ganz unzweifelhaft. In jedem Falle, mag man Eisenchlorid oder H_2O_2 anwenden, empfiehlt es sich — wenigstens bei stark verdünnten Lösungen von Formaldehyd —, nicht gleich das gleiche Volumen Salzsäure hinzuzusetzen, sondern zuerst weniger: man kann oft beobachten, daß eine bei geringerem Salzsäurezusatz erhaltene Reaktion bei starkem Zusatz wieder verschwindet oder doch sehr abblaßt. Die Reaktion von Rimini wird durch die Anwesenheit von Acetaldehyd nicht gestört. Oxymethylfurfurol verhält sich, wie bereits angegeben, nicht ganz negativ, die entstehende Färbung ist mehr gelbrot. Vor einer Täuschung, die übrigens kaum zu befürchten ist, schützt die Anwendung von Große-Bohlescher Lösung in einer anderen Probe, gegen die sich Oxymethylfurfurol so gut wie negativ verhält.

8. Die Reaktion nach Schrywer.

Abelin[1]) spricht sich in einer Arbeit über das Verhalten des Neosalvarsans und Salvarsans im Organismus bezüglich des Nachweises von Formaldehyd direkt im Harn (l. c. S. 317) folgendermaßen aus:

„10 bis 15 ccm des spätestens 3 bis 4 Stunden, am besten $^1/_2$ bis 1 Stunde nach der intravenösen Salvarsaninjektion gelassenen Urins werden mit 2 ccm einer $1^0/_0$igen frisch bereiteten und filtrierten Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin erwärmt, die Mischung abgekühlt und mit 1 ccm einer frischen $5^0/_0$igen Lösung von Ferricyankalium versetzt. Gibt man zu dem gewöhnlich etwas trüb gewordenen Gemisch etwa 5 ccm konzentrierte Salzsäure, so tritt bei Anwesenheit von Formaldehyd eine sehr schöne fuchsinähnliche Färbung auf.

Hat man etwas Übung bei der Ausführung dieser Reaktion gewonnen, so kann man die etwas umständliche jedesmalige Frischbereitung der Lösungen umgehen, indem man den sauer reagierenden Neosalvarsanharn mit einigen Körnchen salzsaurem Phenylhydrazin erwärmt, abkühlt, mit wenig gepulvertem Ferricyankalium versetzt und konzentrierte Salz-

[1]) Abelin, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 75, 317.

säure zugießt. Auch bei dieser Ausführung ist die Reaktion sehr empfindlich."

Ich kann mich diesen Ausführungen in einigen Punkten anschließen, in anderen nicht. Daß es auf genaue Einhaltung der Vorschrift nicht ankommt, geht aus dem zweiten Absatz der Ausführungen von Abelin hervor. Darin stimme ich Abelin bei, dagegen halte ich das Erwärmen nach Zusatz von Phenylhydrazinchlorhydrat nicht nur für überflüssig, sondern unter Umständen für schädlich: erwärmt man etwas zu stark, so kann dadurch die Schönheit der Reaktion beeinträchtigt werden. Daraus folgt, daß ich nicht raten kann, ein wenig Phenylhydrazinchlorhydrat (Abelin sagt „Körnchen", richtiger wohl „Blättchen") in der zu untersuchenden Flüssigkeit zu lösen. Es ist besser, etwas salzsaures Phenylhydrazin (nicht zu wenig, da es sehr leicht ist) im Reagensglas zu lösen, diese Lösung abzukühlen und 1 bis 2 ccm zur Reaktion zu benutzen. Die Lösung hält sich mindestens einige Tage unverändert. Dasselbe gilt für die 5%ige Lösung von Ferricyankalium, wenigstens bleibt sie brauchbar. Ich rate also, bei den Lösungen zu bleiben.

Acetaldehyd gibt keine Reaktion, stört also auch nicht, wenn es vorhanden.

Das Verhalten von Oxymethylfurfurol ist oben schon angegeben.

Die Empfindlichkeit der Reaktion geht etwas weiter, als die von Rimini. In einer Verdünnung von 1:500000 ist Formaldehyd noch gut erkennbar.

4. Die Reaktion nach Bono.

Nach der Vorschrift — ich beziehe mich auf die Arbeit von F. Simon[1]) — soll man der zu prüfenden Flüssigkeit 10 Tropfen wässeriger Phenylhydrazinchlorhydratlösung, 1 Tropfen einer $^1/_2$%igen Nitroprussidnatriumlösung und 10 Tropfen 10%iger Natronlauge hinzusetzen: bei Gegenwart von Formaldehyd tritt Blaufärbung ein. Über die Konzentration der Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin liegt meines Wissens keine Angabe vor. Nach einigen hierüber von mir angestellten

[1]) F. Simon, diese Zeitschr. 65, 86, 1914.

Versuchen scheint die Konzentration von keinem besonderen Einfluß zu sein. Man verfährt am besten so, wie ich oben bei der Reaktion von Schrywer angegeben habe.

Die Reaktion ist bei weitem nicht so fein, wie die bisher besprochenen. In einer Lösung von 1 Formaldehyd : 100000 tritt nur eine schwache blaugrüne Färbung ein, die bald in rötlich übergeht. Die Reaktion fällt stärker aus, wenn man statt eines Tropfens der $^1/_2$ $^0/_0$igen Lösung von Nitroprussidnatrium deren 10 nimmt oder 1 Tropfen einer 5 $^0/_0$igen Lösung.

Bei reinen Formaldehydlösungen ist diese Abänderung empfehlenswert, nicht aber bei solchen, die gleichzeitig Acetaldehyd enthalten. Stärkere Lösungen von Acetaldehyd verhalten sich nicht ganz negativ. Eine Lösung von 0,6 $^0/_0$ Acetaldehyd (festgestellt durch Titrieren mit $^n/_{10}$-Jodlösung) gibt bei Anwendung von einem Tropfen Nitroprussidnatriumlösung eine schwache rötliche Färbung, bei 10 Tropfen eine kirschrote, bald verschwindende Färbung. In einem Gemisch gleicher Volumina von 0,2 $^0/_{00}$ Formaldehyd und 0,6 $^0/_0$ Acetaldehydlösung ist Formaldehyd durch die Reaktion von Bono nicht mehr sicher zu erkennen.

Das Verhalten von Oxymethylfurfurol ist uncharakteristisch. Bei stärkeren Lösungen entsteht eine blaurote Färbung und Trübung, bei schwächeren nur eine rote. Die Färbungen sind mit 10 Tropfen Nitroprussidnatriumlösung stärker als bei 1 Tropfen. Jedenfalls kann die Gegenwart von Oxymethylfurfurol sehr störend wirken.

Wie aus diesen Ausführungen hervorgeht, leistet die Reaktion nach Bono, wenn es sich voraussichtlich nur um Spuren von Formaldehyd handelt, am wenigsten.

Bemerken möchte ich noch, daß alle „Bono-Reaktionen“, wenn man sie, mit einigen Tropfen Wasserstoffsuperoxyd versetzt, stehen läßt, am nächsten Tage lebhaft grasgrün erscheinen (bei 10 Tropfen Nitroprussidnatrium stärker wie bei einem Tropfen), abhängig von den angewandten Reagenzien an sich.

Schließlich möchte ich nicht unterlassen, noch besonders zu bemerken, daß die Farbenreaktionen natürlich von dem Gehalt an Formaldehyd abhängen, und zwar nicht allein hinsichtlich der Intensität, sondern vielfach auch hinsichtlich der

Nuance, so daß man sie eigentlich für eine Anzahl von Konzentrationen besonders beschreiben müßte.

Auf die Reaktion mit Grosse-Bohlescher Lösung bin ich nicht eingegangen, weil dieselbe namentlich in den Arbeiten von H. Fincke[1]) in ihren Einzelheiten hinreichend erörtert ist.

Zusammenfassung.

1. Für die Reaktion auf Formaldehyd nach Leach empfiehlt sich die im Text angegebene Ausführungsform, die sich durch außerordentliche Feinheit und Haltbarkeit der Färbung auszeichnet, aber bei Gegenwart von Acetaldehyd in überwiegender Menge nicht brauchbar ist.

2. Außer Formaldehyd gibt auch Oxymethylfurfurol die Reaktion nach Leach. Besteht die Möglichkeit der Anwesenheit desselben, so ist diese Reaktion nicht anwendbar.

3. Auch gegenüber der Reaktion nach Rimini und Schrywer verhält sich Oxymethylfurfurol nicht ganz negativ, jedoch ist die Nuance der entstehenden Färbungen eine etwas andere und die Reaktionen treten in verdünnten Lösungen nicht auf, so daß Täuschungen nicht so leicht vorkommen können. Die Reaktion nach Bono kann bei Gegenwart von Oxymethylfurfurol zu Irrtümern sowohl nach der positiven als auch nach der negativen Richtung Anlaß geben; auch bei Gegenwart von Acetaldehyd ist Vorsicht geboten.

4. Am wenigsten beeinflußbar ist die Reaktion nach Rimini, sowohl in ihrer ursprünglichen Form, als auch bei Anwendung von Wasserstoffsuperoxyd an Stelle von Eisenchlorid, sie steht jedoch in ihrer Empfindlichkeit der Reaktion von Schrywer etwas nach.

5. Da Oxymethylfurfurol bei der Einwirkung von Säuren auf Kohlenhydrate in größerer oder geringerer Menge entsteht, so ist, falls diese in Frage kommt, stets auf Oxymethylfurfurol zu prüfen.

---

[1]) H. Fincke, diese Zeitschr. 58, 219, 1913 und Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 27, 253, 1914.

Beitrag zur Darstellung des indoxylschwefelsauren Kaliums (Indican.)

Vorläufige Mitteilung.

Von

Ad. Jolles und Erw. Schwenk.

(Aus dem chemisch-mikroskopischen Laboratorium von Dr. M. und Prof. A. Jolles in Wien.)

(Eingegangen am 19. November 1914.)

Obgleich das Indican des Harnes wegen des Interesses, das seine Gegenwart im Harne bietet, schon oft Gegenstand der Bearbeitung in chemischer und besonders in physiologischer Beziehung war, so sind doch die bisher angegebenen Methoden zu seiner synthetischen Darstellung nicht zuverlässig.

Den ersten Versuch zur Gewinnung dieser Substanz machte A. von Bayer[1]), der durch Behandlung einer konzentrierten alkalischen Lösung von Indoxyl mit pyroschwefelsaurem Kali und nachfolgende Reinigung der Reaktionsflüssigkeit eine Lösung erhielt, die die Reaktionen des Indicans gab. Den gleichen Weg wählte J. E. Thesen[2]), der aber von der Phenylglycin-o-carbonsäure ausging und die Kalischmelze derselben in der oben beschriebenen Weise verarbeitete. Er gelangte so auch zu einer geringen Menge krystallisierter Substanz, gibt aber keine Analyse an. Er betont, daß er selbst nur in einigen Versuchen überhaupt zu einem Endprodukt gelangen konnte. Wir wählten zur Darstellung des Indicans die von A. Vereey[3]) für die Darstellung einiger Schwefelsäureester von Phenolen vorgeschlagene und in letzter Zeit von E. Czapek[4]) verbesserte Chlorsulfonsäuremethode. Wir verfuhren folgendermaßen:

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **14**, 1745, 1881.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **23**, 23, 1897.

[3]) Chem. Centralbl. **1901**, I, 813.

[4]) Monatsh. f. Chem. **35**, 635, 1914.

Zuerst wurde durch Eintragen von 20 g Chlorsulfonsäure in viel gekühltes Pyridin eine Lösung der Doppelverbindung von Pyridin und Chlorsulfonsäure hergestellt, aus der sich eine kleine Menge Substanz abgeschieden hatte. Zu dieser wurde eine Auflösung von 3 g N-Acetylindoxyl[1]) in Pyridin zugegeben und das Gemisch zwei Tage sich selbst überlassen.

Die Menge der Chlorsulfonsäure war so gewählt, daß ein sehr großer Überschuß an dieser vorhanden war. Während des Stehens schieden sich in der dunkelrot gefärbten Reaktionsflüssigkeit so viel feine Nadeln ab, daß das Ganze einen dicken Brei bildete. Nach der angegebenen Zeit wurde in einen Fraktionierkolben abgesaugt. Die am Filter verbleibenden Nadeln waren frei von indigobildender Substanz und erwiesen sich als Pyridinhydrochlorid. Die abgesaugte Flüssigkeit wurde im Vakuum von dem Pyridinüberschuß befreit und das noch gebundene Pyridin mit konzentrierter wässeriger Kalilauge in Freiheit gesetzt und durch neuerliche Vakuumdestillation entfernt. Der mit Wasser verdünnte Rückstand wurde durch Kochen mit Tierkohle zu reinigen versucht, doch behielt die Flüssigkeit eine braune Farbe und eine schöne grünliche Fluorescenz. Sie wurde nach längerem Einleiten von Kohlensäure am Wasserbad bis fast zur Trockne eingedampft, dann durch Mischen mit entwässertem Natriumsulfat zur Staubtrockne gebracht, und das Pulver im Soxhlet mit Alkohol (Gemisch von 1 Teil absolutem und 2 Teilen 96$^0/_0$igem Alkohol) extrahiert. Die Extraktionsflüssigkeit wurde auf ein geringes Volumen eingedampft, filtriert, abgekühlt und mit Äther gefällt. Das so erhaltene Rohprodukt wurde nochmals in hochgradigem Alkohol gelöst und wieder mit Äther gefällt. Schließlich wurde mit Wasser aufgenommen, mit Tierkohle entfärbt, eingedampft und die erhaltenen Krystalle zuerst auf Ton, dann im Schwefelsäureexsiccator getrocknet.

Die so erhaltene Substanz zeigte unter dem Mikroskop schön ausgebildete Blättchen, die aber noch eine leichte hellgelbe Tönung hatten. Die geringe Menge, die wir vorderhand erhielten, im ganzen 0,35 g, gestattete uns keine weitere Reinigung.

---

[1]) Die Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co. hatten die Güte, uns 10 g N-Acetindoxyl zu überlassen, wofür wir auch an dieser Stelle bestens danken.

In den Reaktionen zeigte die Substanz das bekannte Verhalten, nämlich die leichte Oxydation zu Indigo in saurer Lösung und die Fällung von Schwefelsäure erst nach dem Kochen mit Säuren. Es ist hervorzuheben, daß die schon von anderen beobachtete, beim Kochen mit Säuren auftretende Rotfärbung von einem schön krystallisierenden Stoff herrührt, der in Chloroform mit roter Farbe ähnlich dem Indirubin löslich ist. Vom letzteren ist er aber durch die schöne blaue Fluorescenz seiner Chloroformlösung unterschieden.

Wegen der geringen Menge Indican, die wir erhielten, wurde nach Zersetzung des indoxylschwefelsauren Kaliums durch Kochen mit verdünnter Salzsäure nur eine Schwefelsäurebestimmung durchgeführt.

0,0938 g Substanz geben 0,0812 g Bariumsulfat,

daher:

gefunden SO_4	berechnet für $C_8H_6NO_4SK$
35,61 %	38,2 %

Ferner wurde nach dem von A. Ellinger[1]) empfohlenen Verfahren durch Oxydation Indigo hergestellt und dieser bestimmt.

25 ccm einer Lösung, die im Liter 0,0667 g Substanz enthielt, wurden nach Vorschrift oxydiert und das erhaltene Indigotin titriert. Hierzu wurden 3,5 ccm einer Permanganatlösung verbraucht, von der 1 ccm 0,1898 mg Indigotin oder 0,3637 mg Indican entsprach. Daher wurden 1,27 mg gefunden. Nach Ellinger werden nach diesem Verfahren 15 % zu wenig gefunden. Bringt man diese Korrektur an, so erhält man 1,49 mg, während sich unter Zugrundelegung der oben berechneten Zahl für Schwefelsäure 1,55 mg berechnen. — Die Versuche werden später nach Erhalt des Ausgangsmaterials mit größeren Quantitäten wiederholt und wird über dieselben berichtet werden.

---

[1]) Vgl. Zeitschr. f. physiol. Chem. 38, 178, 1903.

Berichtigung.

In der Arbeit:

Fr. Vanýsek, Beiträge zur physiologischen Wirkung einiger proteinogener Amine

(diese Zeitschr. Bd. 67, S. 221)

soll stehen:

Auf der Seite 227:

Zeile 9 v. o. statt: Glykolesterchlorhydrat . . . Glykokoläthylesterchlorhydrat.

" 16 v. o. " Glykolester . . . Glykokolester.

" 17 v. o. " Natriumglykokol . . . Natriumglykocholat.

Und auf der Seite 228:

Zeile 18 v. o. statt: Phenyllactylamin . . . Phenyläthylamin.

Asymmetrische Synthese der Mandelsäure, Entstehung von Benzylidenweinsäureester und Benzylidenweinsäure.

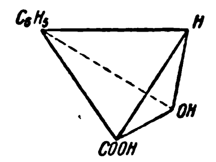
Von

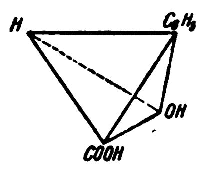
Emil Erlenmeyer.

(Aus der Kaiserlichen Biologischen Anstalt zu Dahlem.)

(Eingegangen am 6. November 1914.)

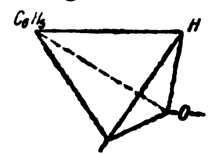
Die racemische Mandelsäure besteht aus den folgenden spiegelbildlichen Modifikationen:

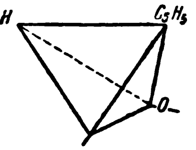




und zwar zu genau gleichen Teilen, da ihre Lösung durch Ausgleich der entgegengesetzt drehenden Moleküle inaktiv ist.

Wie an den Modellen der d- und l-Mandelsäure leicht zu sehen ist, sind in diesen Modifikationen die beiden spiegelbildlichen, zweiwertigen Radikale:





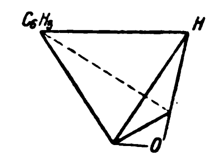
enthalten, deren Existenz der Bildung der beiden spiegelbildlichen Mandelsäurenitrile vorausgegangen sein muß.

Das eine dieser Radikale liefert, wie leicht zu sehen ist, bei der Besetzung durch H und CN ausschließlich d-, das spiegelbildliche dagegen ausschließlich l-Mandelsäurenitril.

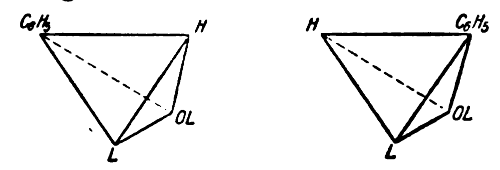
Da unter gewöhnlichen Bedingungen bei der Blausäureaddition an Benzaldehyd das aus gleichen Teilen der d- und l-Modifikation bestehende inaktive Mandelsäurenitril entsteht, so müssen vor seiner Entstehung die beiden obigen spiegelbild-

lichen, zweiwertigen Radikale ebenfalls zu gleichen Teilen vorhanden gewesen sein.

Dabei ist es gleichgültig, ob man sich diese Radikale erst aus den Benzaldehydmolekülen von der bisher gebräuchlichen Formel mit dem doppelt gebundenen Sauerstoffatom:



entstehend denkt, oder ob man nach meiner kürzlich mitgeteilten Theorie [1]) annimmt, daß der Benzalhdehyd bereits als solcher zu gleichen Teilen aus den spiegelbildlichen, in den Lückenformeln wie folgt:



zu schreibenden, freien Radikalen, in Form von leicht in einander verwandelbaren Molekülen mit unbesetzten Affinitäten besteht.

Die bisher allein gebräuchliche Formel des Benzaldehyds mit dem doppelt gebundenen Sauerstoffatom stellt ja lediglich die Mittellage vor, die bei dem Übergang der rechts asymmetrischen Lückenformel in die links oder umgekehrt passiert werden muß, woraus sich ergibt, daß die bisherige und die von mir bevorzugten beiden Formeln nicht prinzipiell verschieden sind, sondern lediglich **die verschiedenen Stellungen zum Ausdruck bringen, in denen das intramolekular bewegliche Molekül des Benzaldehyds kürzere oder längere Zeit verharrend zu denken ist.**

Wie nun die Bildung inaktiven Mandelsäurenitrils die vorherige Existenz der beiden in Reaktion tretenden, spiegelbildlichen zweiwertigen Radikale in genau **gleicher** Anzahl voraussetzt, so ist es einleuchtend, daß, wenn unter besonderen Bedingungen die d- oder die l-drehende Mandelsäure im Überschuß entsteht, vor der Bildung dieses ungleichen Gemisches, das eine der beiden spiegelbildlichen Radikale vorher, durch

[1]) Diese Zeitschrift 64, 346 u. 383, 1914.

eine spezifische Ursache veranlaßt, im Überschuß existiert haben muß. Denn nur unter dieser Voraussetzung erscheint es verständlich, daß bei darauffolgender Reaktion mit Blausäure ein Überschuß der einen optisch aktiven Modifikation des Nitrils gebildet wird, der dann nach der Verseifung einen Überschuß der einen optisch aktiven Komponente der Mandelsäure zur Folge hat.

Als Ursache für die vorwiegende Bildung des asymmetrischen Radikals in seiner einen Form hat man bei allen bisher bekannt gewordenen asymmetrischen Synthesen eine von einem asymmetrischen Molekül mit asymmetrischem Kohlenstoffatom ausgehende, richtende Kraft anzusehen, deren Wirkung auf die veränderlichen, ungesättigten Verbindungen ich als asymmetrische Induktion bezeichnet habe.

Bei der asymmetrischen Synthese der Mandelsäure nach Bredig und Fiske[1]) mit Hilfe von Alkaloiden wird der Benzaldehyd durch den asymmetrischen Einfluß dieser Substanzen, bei der asymmetrischen Synthese des gleichen Körpers nach Rosenthaler[2]) durch den Einfluß des Emulsins überwiegend in der einen asymmetrischen Form eingestellt[3]).

Unter welchen Bedingungen in den einzelnen Fällen solche durch asymmetrische Induktion asymmetrisch eingestellte zweiwertigen Radikale existenzfähig sind, läßt sich nicht vorhersagen, sondern muß in jedem Falle durch das Experiment ermittelt werden.

Ihre vorübergehende Existenz dagegen muß nicht nur aus dem Gelingen der beiden erwähnten asymmetrischen Synthesen der Mandelsäure gefolgert werden, sondern auch aus der kürzlich mitgeteilten asymmetrischen Synthese der nämlichen Säure durch Einwirkung einer Cyankaliumlösung auf die ca. 16 Stunden erhitzte alkoholische Lösung eines Gemisches von Benzaldehyd und d-Weinsäure und darauffolgende Verseifung des abgeschiedenen Nitrils.

Allerdings ist bei dieser Versuchsanordnung, nach der Menge der gebildeten aktiven Mandelsäure zu urteilen, der von der Weinsäure auf die Benzaldehydmoleküle ausgeübte Einfluß ge-

---

[1]) Diese Zeitschr. 46, 7, 1912.

[2]) Diese Zeitschr. 14, 238, 1908.

[3]) Sehr wahrscheinlich ist auch die Erscheinung der Racemisierung als Folge der asymmetrischen Induktion anzusprechen.

ring, und zwar ebenso gering wie der des Chinins bei dem Bredigschen Versuch, so daß man nur, wie die folgende Berechnung lehrt, mit sehr minimalon Mengen asymmetrisch eingestellten Benzaldehyds zu rechnen hat.

Bei dem in Bd. 64 S. 387 beschriebenen ersten Versuch waren aus der Hälfte der 10 g angewandten Benzaldehyds 3 g inaktive und 0,16 g aktive Mandelsäure von dem Drehungsvermögen $[\alpha]_D = +5^0$ erhalten worden. Da der höchste Drehwert aktiver Mandelsäure $[\alpha]_D = \pm 157^0$ beträgt, so können in den 0,16 g der $+5^0$ drehenden Mandelsäure nur 0,004 g Mandelsäure von dem höchsten Drehwert enthalten sein. Diese 0,004 g Mandelsäure sind entstanden aus nur 0,0025 g Benzaldehyd. In 5 g des mit Weinsäure in alkoholischer Lösung erhitzten Benzaldehyds können bei diesem ersten Versuch höchstens 0,0025 g Benzaldehyd in seiner asymmetrischen Form enthalten gewesen sein, bei den anderen Versuchen noch weniger.

Da die Drehung des mit Weinsäure erhitzten Benzaldehyds an einer Lösung von der doppelten Menge Benzaldehyd, also 10 g in 100 ccm Äther, festgestellt wurde, so können in dieser Lösung von 100 ccm im besten Falle nur 0,005 g asymmetrischer Benzaldehyd enthalten gewesen sein.

Bei dieser äußerst geringen Konzentration von $c = 0{,}005$ könnte man nur unter Voraussetzung eines außergewöhnlich hohen Drehungsvermögens des asymmetrischen Benzaldehyds bei der Polarisation die Ablesung eines über die Fehlergrenze hinausgehenden Drehungswinkels erwarten.

Nimmt man für den Benzaldehyd z. B. das $[\alpha]_D = 200^0$ an, so berechnet sich bei der Konzentration 0,005 und der Rohrlänge 2 ein Winkel $\alpha = 0{,}02^0$.

In Wirklichkeit besaß die ätherische Lösung des bei dem ersten Versuch (l. c.) erhaltenen Benzaldehyds nach dem Erhitzen mit Weinsäure aber den Drehungswinkel $\alpha = -0{,}31^0$.

Die Differenz dieses Drehungswinkels und des für den in die aktive Mandelsäure eingetretenen asymmetrischen Benzaldehyds berechneten Drehungswinkels von ca. $0{,}002^0$ beträgt $0{,}29^0$.

Es mußte daher durch das Experiment entschieden werden, ob etwa bei der Bildung der Mandelsäure ein dem Winkel $0{,}29^0$ entsprechender Betrag an Aktivität verloren gehe, oder ob

dieser Betrag auf eine bisher noch unbekannte, beim Erhitzen von Benzaldehyd und Weinsäure gleichzeitig gebildete, linksdrehende Substanz zurückzuführen ist.

Bei Abfassung der ersten kurzen Mitteilung[1]) hatten wir die erstere Annahme bevorzugen zu müssen geglaubt, da uns die Bildung anderer, weinsäurehaltiger, gleichfalls linksdrehender Verbindungen unter den angewandten Versuchsbedingungen sehr unwahrscheinlich war.

Gleichwohl waren am Schluß dieser Abhandlung besondere Versuche in Aussicht gestellt worden zur Prüfung auf solche vom Benzaldehyd verschiedene linksdrehende Substanzen.

Die seit der Drucklegung dieser ersten Abhandlung in dieser Richtung ausgeführten Versuche haben, wie schon kürzlich mitgeteilt werden konnte[2]), das sehr überraschende Resultat gehabt, daß beim Erhitzen der alkoholischen Benzaldehyd-Weinsäurelösung ein, wenn auch nur geringer Anteil der angewandten Substanzen sich chemisch verbindet unter Bildung von zwei linksdrehenden, weinsäure- und benzaldehydhaltigen Verbindungen, einer neutralen und einer sauren, über deren Entstehung und Natur im folgenden berichtet werden soll.

Die Auffindung dieser stark linksdrehenden Benzaldehyd-Weinsäureverbindungen beweist, daß man in den beim ersten Versuche mit Weinsäure erhitzten 10 g Benzaldehyd, der mitgeteilten Berechnung entsprechend, nur einen Gehalt von 0,005 g molekular asymmetrischen, aktiven Benzaldehyd annehmen darf, dessen Drehungswinkel bei der geringen Konzentration neben dem durch die anderen Substanzen verursachten gar nicht ins Gewicht fällt.

Die bisher bekannt gewesenen asymmetrischen Synthesen sind dadurch gekennzeichnet, daß die ungesättigte Gruppe, aus der bei der Synthese das oder die neuen asymmetrischen Kohlenstoffatome unter Bevorzugung der einen Asymmetrie gebildet werden, vor und während der asymmetrischen Synthese chemisch mit dem den asymmetrischen Einfluß ausübenden Radikal in Verbindung steht, während bei der asymmetrischen Synthese der aktiven Mandelsäure, sowohl nach der Methode von Rosenthaler als der nach Bredig und der un-

[1]) Diese Zeitschr. 64, 382, 1914.
[2]) Diese Zeitschr. 66, 509, 1914.

seren, der asymmetrische Einfluß der angewandten aktiven Verbindungen mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen auf die Benzaldehydmoleküle auch, ohne daß beide Substanzen in chemischer Verbindung stehen, ausgeübt wird.

Denn die Tatsache, daß in diesen Fällen die Mandelsäure nicht racemisch, sondern unter Vorherrschen der einen aktiven Modifikation gebildet wird, ist doch nur unter der Voraussetzung verständlich, daß unter den gewählten Bedingungen die Benzaldehydmoleküle vorzugsweise in der einen ihrer asymmetrischen Form eingestellt werden, in der sie dann bei der Umwandlung in Mandelsäure zur Bildung eines Überschusses der einen der aktiven Komponenten Veranlassung geben müssen.

Wenn es bisher auch nicht möglich war, einseitig asymmetrischen, optisch aktiven Benzaldehyd frei von Nebenprodukten und den zur Induktion benutzten Substanzen darzustellen und bei der leichten Racemisierbarkeit für diese Möglichkeit auch in Zukunft nur wenig Hoffnung besteht, so muß es doch, wie sich aus den angeführten asymmetrischen Synthesen der aktiven Mandelsäure aus Benzaldehyd ergibt, zu einem größeren oder geringeren Teil in einer seiner asymmetrischen Formen im Überfluß vor und während der asymmetrischen Synthese vorhanden gewesen sein.

Nach den bisher vorliegenden Erfahrungen muß damit gerechnet werden, daß ungesättigte Verbindungen in ihrer asymmetrischen, optisch aktiven Form bei Abwesenheit der induzierenden, stabilen asymmetrischen Verbindungen nur in seltenen Fällen existenzfähig sind, häufiger wird es vielleicht möglich sein, ihre Existenz neben der gleichzeitig in Lösung befindlichen, induzierenden, stabilen asymmetrischen Substanz durch das Gelingen einer asymmetrischen Synthese zu beweisen, wie dies für den Benzaldehyd durch die asymmetrische Synthese der Mandelsäure möglich war. In allen anderen Fällen, bei denen die ungesättigte Verbindung oder Gruppe mit der stabilen asymmetrischen Verbindung oder Gruppe in fester chemischer Bindung steht, muß die ungesättigte Gruppe, beeinflußt durch den asymmetrischen Teil des Moleküls, mehr oder weniger vollständig in der diesem Teil des Moleküls entsprechenden Asymmetrie eingestellt werden.

Die von E. Fischer bei der Blausäureaddition an die ver-

schiedenen Zuckerarten gesammelten Erfahrungen können geradezu als Belege für die Berechtigung dieser Anschauung herangezogen werden.

Experimenteller Teil.

Gemeinsam mit G. Hilgendorff.

Die in der ersten Abhandlung[1]) mitgeteilten Versuche hatten ergeben, daß eine Lösung von Benzaldehyd und Weinsäure in Alkohol beim Erhitzen zuerst eine Einbuße ihrer ursprünglichen Rechtsdrehung erleidet, um sodann bei weiterem Erhitzen beträchtlich über diesen Drehwert zuzunehmen.

Dieser zu beobachtende Rückgang der Drehung war unter der Voraussetzung leicht verständlich, daß beim Erhitzen zuerst in geringer Menge eine linksdrehende Substanz entsteht, deren Linksdrehung naturgemäß die ursprüngliche Rechtsdrehung vermindert, während die nach weiterem Erhitzen beobachtete Erhöhung des ursprünglichen Drehwerts nur durch irgend eine an den Weinsäuremolekülen vor sich gehende Veränderung erklärt werden konnte.

Daß unter den von uns angewandten Bedingungen in der Tat eine, nach den festgestellten Drehwerten zu urteilen, fast konstante Menge eines linksdrehenden Körpers entsteht, läßt sich leicht nachweisen, wenn man nach mehrstündigem Erhitzen die alkoholische Benzaldehyd-Weinsäurelösung zur Abtrennung der unveränderten Rechtsweinsäure mit Wasser und Äther schüttelt. Die durch wiederholtes Schütteln mit Wasser von Weinsäure befreite, den Benzaldehyd enthaltende ätherische Lösung drehte bei allen Versuchen beträchtlich nach links.

Um zu entscheiden, ob in der linksdrehenden Lösung des Benzaldehyds, sowie bei Anstellung des Versuchs erwartet worden war, optisch aktive Benzaldehydmoleküle enthalten sind, wurde zuerst seine Überführbarkeit in l-Mandelsäurenitril und d-Mandelsäure untersucht.

Die dahingehenden Versuche hatten zwar den erhofften positiven Erfolg, zeigten aber gleichzeitig, wie in der Einleitung ausgeführt wurde, daß nur aus einem ganz minimalen Bruchteil des angewandten Benzaldehyds aktive Mandelsäure entsteht und es mußte deshalb experimentell entschieden werden,

[1]) Diese Zeitschr. 64, 382, 1914.

ob bei der Mandelsäuresynthese der größte Teil der beobachteten Aktivität des mit Weinsäure erhitzten Benzaldehyds verloren geht oder auf eine nebenher entstandene gleichfalls linksdrehende Benzaldehyd-Weinsäureverbindung zurückzuführen ist.

Zur Beantwortung dieser Frage war es notwendig, größere Mengen des mit Weinsäure erhitzten Benzaldehyds in eingehendster Weise auf etwa vorhandene, von Benzaldehyd verschiedene Bestandteile zu untersuchen.

Trennung des mit Weinsäure in alkoholischer Lösung erhitzten Benzaldehyds in saure und neutrale Bestandteile.

Unter der Voraussetzung, daß Benzaldehyd und Weinsäure überhaupt beim Erhitzen ihrer alkoholischen Lösung chemisch aufeinander einwirken, konnte mit der Entstehung sowohl saurer, carboxylhaltiger als auch neutraler Moleküle, in denen die Carboxylgruppen der Weinsäure festgelegt sind, gerechnet werden.

Um hierüber Aufschluß zu erhalten, wurden mehrmals größere Mengen von Benzaldehyd in der folgenden Weise verarbeitet.

Eine Lösung von 150 g Weinsäure und 106 g Benzaldehyd in 300 ccm Alkohol wurde 9 Stunden am Rückflußkühler gekocht, sodann abgekühlt und zur Scheidung von Benzaldehyd und Weinsäure mit Wasser und Äther geschüttelt.

Zur vollständigen Abtrennung der Weinsäure ist es nötig, die ätherische Lösung öfter mit Wasser durchzuschütteln. Erst wenn das auf ein kleines Volumen eingedampfte Schüttelwasser eine Rechtsdrehung nicht mehr erkennen läßt, kann man überzeugt sein, daß das Benzaldehyd-Äthergemisch von der darin nicht unbeträchtlich löslichen Weinsäure befreit ist. Dieser Punkt wird nach 7- bis 9maligem Schütteln erreicht.

Die stark linksdrehende ätherische Lösung wurde nunmehr, um ihr Verhalten gegen schwache Alkalien zu prüfen, mit einer verdünnten Lösung von Natriumbicarbonat durchgeschüttelt.

Die bei einem Versuch nach Entfernung der Weinsäure erhaltene ätherische Lösung — Vol. 700 ccm — drehte im 2-dcm-Rohr

$$\alpha = -0{,}40^\circ.$$

Die Bicarbonatlösung zeigte nach dem Durchschütteln mit dieser ätherischen Lösung starke Linksdrehung:

Vol. 200 ccm, 2-dcm-Rohr

$$\alpha = -0{,}47^\circ.$$

Nach erneutem Schütteln mit frischer Bicarbonatlösung wurde diese inaktiv gefunden, so daß also bereits beim erstmaligen Schütteln die

Gesamtmenge der in Äther gelösten aktiven, sauren Substanz durch die Bicarbonatlösung ausgezogen worden ist.

Trotzdem zeigte die nunmehr vollständig von ihren sauren Bestandteilen befreite ätherische Lösung noch eine recht beträchtliche Linksdrehung, die demnach nur durch eine **aktive, indifferente Substanz** verursacht sein konnte:

Vol. 600 ccm, 2-dcm-Rohr

$$\alpha = -0{,}28^{0}.$$

Nach dem Einengen auf ein Volumen von 180 ccm:

$$\alpha = -0{,}72^{0}.$$

Zur weiteren Erforschung[1]) dieser in Lösung befindlichen linksdrehenden indifferenten Substanz wurden 90 ccm der ätherischen Benzaldehydlösung zuerst vom Äther befreit und sodann das zurückbleibende Bittermandelöl der Destillation im Vakuum unterworfen.

Es hinterblieben im Destillationskolben 4,5 g eines sehr schwer flüchtigen, gelbgefärbten, dicken Öles von aromatischem, esterartigem Geruch.

Der aus 90 ccm der ätherischen Lösung herausgearbeitete Gesamtrückstand wurde wieder in Äther gelöst und auf 90 ccm aufgefüllt und polarisiert.

Die Lösung erwies sich nicht nur linksdrehend, sondern besaß innerhalb der Ablesungsfehler den gleichen Drehungswinkel wie die ursprüngliche ätherische Lösung, nämlich im 1-dcm-Rohr $\alpha = -0{,}37^{0}$, während die ursprüngliche Lösung im 2-dcm-Rohr $\alpha = -0{,}72^{0}$ gedreht hatte.

Die Auffindung dieses stark linksdrehenden, indifferenten, von Benzaldehyd verschiedenen Öles beweist, daß der bei weitem größte Teil der Linksdrehung auf das Vorhandensein dieses Öles zurückzuführen ist und daß man in dem ursprünglichen Öl die Anwesenheit von nicht mehr aktivem Benzaldehyd annehmen darf, als der erhaltenen Menge aktiver Mandelsäure entspricht; das ist, wie in der Einleitung berechnet wurde, im günstigsten Falle $0{,}05\,^{0}/_{0}$, eine Menge, die sich durch die Polarisation nicht mehr feststellen läßt.

Dadurch wird es auch ohne weiteres klar, daß der aus dem Rohöl nach dem Abdestillieren des Benzaldehyds ge-

[1]) Laut Laboratoriumsjournal wurde dieser Versuch vom 15. bis 20. Juni ausgeführt, das Heft mit der Beschreibung der ersten Versuche erschien am 20. Juni. In der in meinem Sommerurlaub abgefaßten Mitteilung, diese Zeitschr. **66**, 509, konnte ich diesen Versuch nicht beschreiben, da ich das Laboratoriumsjournal nicht zur Hand hatte.

wonnene Rückstand wieder in Äther gelöst und auf das ursprüngliche Volumen gebracht, sich im Drehungswinkel nicht merklich von der ursprünglichen ätherischen Lösung des Rohöls unterscheidet und daß die bei 9 mm Druck und bei 67° überdestillierten 34,7 g Benzaldehyd, wie durch die Untersuchung festgestellt wurde, sich inaktiv erwiesen.

Aber selbst bei Anwesenheit größerer Mengen aktiven Benzaldehyds war bei dem nach der Theorie vorauszusetzenden überaus leicht erfolgenden Übergang von der d- in die l-Form und umgekehrt gar nicht daran zu denken, diesen destillieren zu können, ohne daß dabei vollständige Racemisierung eintritt.

Die nach der Theorie zu erwartenden molekular asymmetrischen, ungesättigten Verbindungen dürfen eben den viel stabileren Verbindungen mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen nich ohne weiteres an die Seite gestellt werden. Von dieser Überlegung ausgehend, hatten wir deshalb zuerst unser Augenmerk darauf gerichtet, die Anwesenheit eines Überschusses der einen asymmetrischen Modifikation des Benzaldehyds durch die Darstellung der aktiven Mandelsäure nachzuweisen.

Die bisher mitgeteilten Beobachtungen lehren also, daß beim Erhitzen von Benzaldehyd und Weinsäure in alkoholischer Lösung auch eine chemische Reaktion stattfindet, unter Bildung einer linksdrehenden sauren und einer linksdrehenden indifferenten Verbindung, und daß nur ein ganz minimaler Überschuß von höchstens 0,05 % des angewandten Benzaldehyds in seiner linksasymmetrischen Form vorhanden sein kann, aus dem dann bei der Synthese der von uns festgestellte geringe Überschuß an d-Mandelsäure gebildet wird.

Benzylidenweinsäurediäthylester.

Zur Aufklärung der Natur der sauren sowie der neutralen Verbindung wurden diese in größerer Menge nach dem eben beschriebenen Verfahren dargestellt. Da sich die indifferente Verbindung beständiger erwies und leichter in wohl charakterisierten Krystallen gewonnen werden konnte, so ließen wir von ihr die weitere Untersuchung ausgehen.

Bei den ersten Versuchen war die neutrale Verbindung nur als Öl erhalten worden. Neuerdings gelang es, sie durch das folgende Verfahren fest und krystallisiert zu erhalten.

Zu dem Ende destilliert man das durch Schütteln mit Wasser und darauf mit verdünnter Bicarbonatlösung von seinen sauren Bestandteilen befreite Öl zur Entfernung der Hauptmenge des Benzaldehyds zuerst im Vakuum; der im Kolben verbleibende ölige Rückstand wird zur Trennung von den letzten Anteilen von Benzaldehyd mit Wasserdampf destilliert; das mit Wasserdampf nicht flüchtige Öl nimmt man sodann in Äther auf, schüttelt zur Entfernung etwa vorhandener Benzoesäure die ätherische Lösung mit Bicarbonatlösung durch und läßt sie nach dem Trocknen mit entwässertem Glaubersalz über Schwefelsäure verdunsten. Der in Lösung befindliche neutrale Körper scheidet sich hierbei in krystallinischer Form ab. Ausgehend von 150 g Weinsäure und 100 g Benzaldehyd wurden 2,5 g des schön krystallisierten neutralen Körpers erhalten.

Er ist unlöslich in Wasser, dagegen leicht löslich in den meisten organischen Lösungsmitteln. Aus Petroläther, worin er nur ziemlich leicht löslich ist, läßt er sich in schönen großen, derben, gut ausgebildeten Krystallen vom Schmelzpunkt 48 bis 49° erhalten.

Die Bestimmung des Drehungsvermögens in ätherischer Lösung ergab:
0,1000 g — Vol. 10 ccm — $c = 1$ drehte im 1-dcm-Rohr
$\alpha = -0{,}40°$, d. i. $[\alpha]_D = -40°$.

Die Verbrennung lieferte die folgenden Zahlen:
1. 0,1092 g gaben 0,2463 CO_2 und 0,0622 H_2O.
2. 0,1401 g „ 0,3144 CO_2 „ 0,0790 H_2O.

	Gef.: I.	II.	Ber. f. $C_5H_6O_2$
C:	61,51	61,20	61,22
H:	6,33	6,27	6,12

Als einfachste empirische Formel berechnet sich also aus den gefundenen Analysenwerten: $C_5H_6O_2$. Nimmt man den Körper aus 1 Mol. Weinsäure und 1 Mol. Benzaldehyd entstanden an, so muß er im Molekül zum mindesten $4 + 7 = 11$ Atome Kohlenstoff enthalten. Die hiernach und nach der Analyse in Betracht kommende einfachste Formel ist:

$$3 . C_5H_6O_2 = C_{15}H_{18}O_6 .$$

Außer den 11 von Benzaldehyd und Weinsäure gelieferten Kohlenstoffatomen müssen daher noch 4 Kohlenstoffatome, offenbar in Form von 2 Mol. Äthylalkohol, mit in die Verbindung eingetreten sein.

Für die Entstehung dieses neutralen Körpers kommt dann die folgende Gleichung in Frage:

$$1\,C_6H_5-CHO+1\,C_4H_6O_6+2\,C_2H_5OH=C_{15}H_{18}O_6+3\,H_2O,$$

d. h. er muß durch Zusammenwirken von einem Molekül Benzaldehyd, einem Molekül Weinsäure und zwei Molekülen Alkohol unter Austritt von drei Molekülen Wasser entstanden sein und ist daher als der Diäthylester einer Benzylidenweinsäure von der Formel:

$$\begin{array}{l} CO_2C_2H_5 \\ | \\ CH-O\diagdown \\ | \qquad\quad\; >CH-C_6H_5 \\ CH-O\diagup \\ | \\ CO_2C_2H_5 \end{array}$$

anzusprechen.

Dieser Auffassung entsprechend geht bei der Verseifung, die bereits beim Erhitzen mit Sodalösung erfolgt, mit den Wasserdämpfen in beträchtlicher Menge Alkohol über, der sich leicht und einwandfrei durch Überführung in Jodoform nachweisen läßt.

Darstellung des Benzylidenweinsteinsäureesters unter Zuhilfenahme von Kondensationsmitteln.

Die oft wiederholten Versuche lassen erkennen, daß sich beim Erhitzen von Benzaldehyd und Weinsäure in alkoholischer Lösung eine sehr geringe, über eine bestimmte Grenze nicht hinausgehende Menge des Benzylidenweinsäureesters bildet. Aus 150 g Weinsäure waren nur 2,5 g Ester erhalten worden. Deshalb wurde versucht, die Ausbeute an diesem Körper durch Anwendung von Kondensationsmitteln zu steigern.

Zu dem Zweck wurde eine Lösung von 50 g Weinsäure und 35,3 g Benzaldehyd in 150 ccm Alkohol in der Kälte mit gasförmiger Salzsäure gesättigt. Die sich gelblich färbende Lösung drehte nach $1^1/_2$ tägigem Stehen — Vol. 250 ccm, 1-dcm-Rohr —

$$\alpha = -0{,}36^\circ,$$

ein Zeichen für die erfolgte Bildung einer stark linksdrehenden Substanz, deren Linksdrehung die Rechtsdrehung unveränderter Weinsäure beträchtlich übertrifft.

Die Verarbeitung der Lösung geschah genau wie bei den Versuchen ohne Salzsäure. Nach der Abtrennung der unveränderten Weinsäure durch wiederholtes Ausschütteln mit Wasser wurde zur Prüfung auf das Vorhandensein der linksdrehenden Säure die ätherische Lösung

des Öls mit Bikarbonatlösung geschüttelt. Erst nach dem Einengen der Lösung ließ sich durch Ablesung einer deutlichen Linksdrehung die Anwesenheit der Säure nachweisen.

Die durch das Schütteln mit Bicarbonatlösung von allen sauren Bestandteilen befreite ätherische Lösung hinterließ nach dem Abdestillieren des Äthers 37 g Substanz, die im 1-dcm-Rohr die Drehung:

$$\alpha = -4{,}85^\circ$$

zeigten.

Bei der Destillation im Vacuum gingen 23 g unveränderter Benzaldehyd über, der verbleibende Rückstand, der ein dickflüssiges goldgelbes Öl von dem Geruch des Benzylidenweinsäureesters vorstellte, ließ sich in der oben beschriebenen Weise fest und krystallinisch erhalten. Die Ausbeute der aus 50 g Weinsäure erhaltenen krystallinischen Substanz betrug bei diesem Verfahren 5 g.

Durch die aus Petroläther erhaltenen charakteristischen Krystalle, durch den bei 47° liegenden Schmelzpunkt, sowie durch das Drehungsvermögen:

0,2 g in Äther gelöst — Vol. 20 ccm, $c = 1$ — drehten im 2-dcm-Rohr $\alpha = -0{,}80^\circ$, d. i.

$$[\alpha]_D = -40{,}00^\circ$$

gab sich die Verbindung als Benzylidenweinsäureester zu erkennen.

Eine wesentliche Verbesserung in der Ausbeute ließ sich bisher noch nicht, auch nicht bei Anwendung von konzentrierter Schwefelsäure als Kondensationsmittel, erzielen.

Benzylidenweinsäure.

Die dem soeben beschriebenen Ester zugrunde liegende Benzylidenweinsäure ist als solche in der erhitzten alkoholischen Lösung von Benzaldehyd und Weinsäure enthalten und läßt sich aus der mit Wasser gewaschenen ätherischen Lösung des Rohöls durch Schütteln mit Bicarbonatlösung gewinnen.

Zur Abscheidung der freien Säure werden die Bicarbonatlösungen eingeengt, dann angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Beim Verdunsten der mit Glaubersalz getrockneten ätherischen Schicht über Schwefelsäure hinterbleibt ein krystallinischer Rückstand. Zur Entfernung von etwa noch beigemengter Benzoesäure wird dieser 3 mal mit Petroläther ausgezogen.

Die in Petroläther unlösliche Substanz saurer Natur läßt sich aus Benzol in Form feiner Nadeln krystallisiert erhalten. Sie stellt einen sehr leicht zersetzlichen Körper vor, der sich schon beim Liegen an der Luft sehr bald verändert, dagegen beim Aufbewahren unter Petroläther beständig ist.

Nach kurzem Abpressen auf Ton schmilzt die Säure unter vorherigem Weichwerden bei 124°. Schon nach $^1/_2$ stündigem

Liegen an der Luft sinkt der Schmelzpunkt unter 100°, nach mehrstündigem Liegen sogar auf 78 bis 80°. Beim Erhitzen im trocknen Reagensrohr treten zuerst Benzaldehyddämpfe auf, sodann findet vollständige Zersetzung unter Abscheidung von Kohle statt.

Von allergrößtem Interesse ist das Verhalten dieser schön krystallisierten Säure beim Kochen mit Wasser. Bereits in der Kälte löst sie sich spielend leicht in Wasser auf. Erhitzt man nun die Lösung zum Kochen, so spaltet sich der chemisch gebundene Benzaldehyd vollständig ab und läßt sich mit Wasserdampf abtreiben, während sich in der rückständigen Flüssigkeit die bei der Spaltung in Freiheit gesetzte Weinsäure durch die Rechtsdrehung ihrer Lösung sowohl, als durch Überführung in Weinstein nachweisen läßt.

Dieser Versuch stellt gleichzeitig einen Beweis vor für die Zusammensetzung der Säuren aus Benzaldehyd und Weinsäure. Bei der großen Zersetzlichkeit der freien Säure an der Luft war es nicht möglich, von ihr genau stimmende Analysenwerte zu erhalten.

Die besten Zahlen lieferten Präparate, die rasch durch Abpressen auf Ton von der Petroläthermutterlauge getrennt worden waren.

1. 0,0935 g gaben 0,1851 g CO_2 und 0,0366 g H_2O.
2. 0,1101 g „ 0,2180 g CO_2 „ 0,0481 g H_2O.

Eine Probe, die 3 Tage gelegen hatte, lieferte bereits sehr viel niedrigere Werte:

3. 0,1083 g gaben 0,1927 g CO_2 und 0,0521 g H_2O.

Ber. f. $C_{11}H_{10}O_6$		Gef. 1.	2.	3.
C	55,46	53,99	54,00	48,53
H	4,20	4,35	4,85	5,35

Beständiger dagegen erwies sich das Silbersalz der Säure, das sich durch Umsetzung der Ammoniaksalzlösung mit Silbernitrat als weißer, schwerlöslicher, amorpher Niederschlag gewinnen läßt.

Bei der Analyse des unter Lichtabschluß getrockneten Silbersalzes wurde gefunden:

0,0710 g gaben 0,0340 g Ag.

Ber. f. $C_{11}H_8O_6Ag_2$		Gef.
Ag	47,79	47,89

Eine Lösung von 0,0736 g Säure in Chloroform — Vol. 10 ccm, $c = 0,736$ — drehte im 1-dcm-Rohr $\alpha = -0,20°$, d. i.

$$[\alpha]_D = -27,1°.$$

Die mitgeteilten Analysen der freien Säure und ihres Silbersalzes sowie der beobachtete Zerfall in Benzaldehyd und Weinsäure lassen zwar keinen Zweifel, daß man es bei der beim Erhitzen der Benzaldehyd-Weinsäurelösung entstehenden Säure mit der dem nebenher gebildeten Ester zugrunde liegenden Benzylidenweinsäure zu tun hat, trotzdem war es wünschenswert, auch durch Darstellung dieser Säure aus dem Ester den direkten Beweis für den genetischen Zusammenhang beider Substanzen zu erbringen.

Entstehung der Benzylidenweinsäure aus ihrem Ester durch Verseifung.

Der Benzylidenweinsäurediäthylester wird bereits beim Kochen mit verdünnter Sodalösung zu dem Natriumsalz der Benzylidenweinsäure verseift. Besonders kemerkenswert ist es, daß die beim Kochen mit Wasser in Benzaldehyd und Weinsäure zerfallende Benzylidenweinsäure, an Natrium gebunden, selbst bei längerem Kochen nicht gespalten wird.

Zur Darstellung der Benzylidenweinsäure aus ihrem Ester wird dieser mit verdünnter Sodalösung so lange gekocht, bis der zu einem Öl zusammengeschmolzene Ester vollständig gelöst ist. Die stark linksdrehende Lösung des Natriumsalzes wird darauf mit Salzsäure angesäuert und die freie Benzylidenweinsäure mit Äther extrahiert. Beim Verdunsten der getrockneten ätherischen Lösung hinterbleibt eine krystallinische Substanz von den Eigenschaften der oben beschriebenen Benzylidenweinsäure. Es wurde nicht nur das Sinken des Schmelzpunktes beim Liegen an der Luft beobachtet, sondern auch die leichte Zersetzlichkeit der Säure beim Kochen ihrer wässerigen Lösung unter Spaltung in Benzaldehyd und Weinsäure festgestellt.

Das wie oben dargestellte Silbersalz gab bei der Analyse:

0,1185 g gaben 0,0567 g Ag.

Ber. f. $C_{11}H_8O_6Ag_2$	Gef.
Ag 47,79	47,85

Eine Lösung von 0,0500 g der Säure in Chloroform — Vol. 10,0 ccm, $c = 0,5$ — drehte im 2-dcm-Rohr gleich nach der Herstellung $\alpha = 0,31^\circ$, d. i.

$$[\alpha]_D = -31,0^\circ,$$

nach 20 Stunden $\alpha = -0,25^\circ$, d. i.

$$[\alpha]_D = -25,0^\circ.$$

Aus der Abnahme des Drehungsvermögens ist zu schließen, daß die Säure bereits beim Stehen in der Chloroformlösung Veränderungen irgendwelcher Art erleidet, die das Drehungsvermögen beeinflussen.

Schluß.

Die Versuche haben also ergeben, daß von dem mit Weinsäure in alkoholischer Lösung erhitzten Bittermandelöl nur eine minimale Menge von 0,05 % zu aktiver Mandelsäure führt. Nur von den dieser Menge entsprechenden Benzaldehydmolekülen darf angenommen werden, daß sie durch den Einfluß der Weinsäure in der links asymmetrischen Form eingestellt sind. Wie in der Einleitung ausgeführt wurde, ist diese Menge zu gering, um durch das Drehungsvermögen festgestellt werden zu können.

Der größte Teil der nach dem Erhitzen von Benzaldehyd und Weinsäure in alkoholischer Lösung beobachteten Linksdrehung des von der Weinsäure getrennten Öls wird dagegen durch die beim Erhitzen entstandenen, gleichfalls linksdrehenden Verbindungen: die Benzylidenweinsäure und den Benzylidenweinsäureäther, bewirkt.

Nach der voranstehenden Untersuchung kann der Benzylidenweinsäure nur die Formel:

$$C_6H_5-CH\begin{matrix} \diagup O-CH-COOH \\ | \\ \diagdown O-CH-COOH \end{matrix}$$

zugeschrieben werden.

Das größte Interesse beansprucht nicht nur die Tatsache, daß Benzaldehyd beim Erhitzen in alkoholischer Lösung mit Weinsäure zu Benzylidenweinsäure und ihrem Ester chemisch vereinigt wird, sondern auch die Art der Verkettung des Benzaldehyds mit den beiden alkoholischen Hydroxylgruppen der Weinsäure. Der überaus leicht erfolgende Zerfall der Benzylidenweinsäure in ihre Komponenten ist besonders deshalb bemerkenswert, weil er unter Bedingungen erfolgt, unter denen die Salze und Ester der Säure beständig sind. Der leichte Zerfall bei der Säure muß daher mit der Anwesenheit der freien Carboxylgruppen zusammenhängen.

Zum Beweis dafür, daß die bei 4 Versuchen aus den letzten Benzolmutterlaugen in prächtigen asymmetrischen Krystallen erhaltene, schwach rechtsdrehende Mandelsäure von dem,

auch von **Bredig** beobachteten, Schmelzpunkt 116° ihre Entstehung dem Vorhandensein eines kleinen Überschusses von links asymmetrischem Benzaldehyd in der erhitzten alkoholischen Benzaldehyd-Weinsäurelösung verdankt und nicht etwa der Umsetzung von Blausäure mit der leicht in ihre Komponenten zerfallenden Benzylidenweinsäure wurde das aus 2,2 g des Esters gewonnene Natriumsalz in konzentrierter Lösung mit einer konzentrierten Lösung des Doppelten der berechneten Menge = 1 g Cyankalium vermischt und zu der mit Eis gekühlten Mischung allmählich 2,2 g Eisessig zufließen gelassen.

Nach 20stündigem Stehen ging beim Schütteln der Flüssigkeit mit Äther nur 0,1 g nach Essigsäure riechende, ölige Substanz in diesen über, deren Linksdrehung innerhalb der Ablesungsfehler lag. Bei dem Verseifungsversuch durch Salzsäure ließ sich nicht die Spur von Mandelsäure weder in inaktiver, noch in aktiver Form, noch sonst irgendeine aktive Substanz nachweisen.

Da die ausgeätherte wässerige Lösung — Vol. 80 ccm — im 2-dcm-Rohr die Drehung $\alpha = -2{,}10^0$ zeigte, so muß man den Schluß ziehen, daß die Benzylidenweinsäure bei der Behandlung des Natriumsalzes mit Blausäure in Gegenwart von Essigsäure unverändert bleibt und somit als Ausgangssubstanz für die Bildung aktiver Mandelsäure nicht in Frage kommt.

Da es auch nicht möglich war, von dem Ester aus zu aktiver Mandelsäure zu gelangen, so bestätigen diese Versuche daß die aus dem in alkoholischer Lösung mit Weinsäure erhitzten Benzaldehyd erhaltene aktive Mandelsäure nur aus einer geringen Menge (0,05 %) von links asymmetrischem Benzaldehyd entstanden sein kann, der in dieser Linksform durch das Erhitzen mit der Weinsäure eingestellt wird.

Wenn es danach auch nicht möglich war, den der Theorie nach zu erwartenden asymmetrischen Benzaldehyd in einer durch die Polarisation nachweisbaren Menge zu erhalten, so kann doch nicht an seiner vorübergehenden Existenz in geringen Mengen vor und während der asymmetrischen Synthese der Mandelsäure aus dem mit Weinsäure erhitzten Benzaldehyd gezweifelt werden.

Beiträge zur Frage der Glykolyse.

Von

Walther Löb.

IV. Mitteilung[1]).

Die katalytische Beeinflussung der oxydativen Glykolyse.

Von

Wilhelm Beysel und Walther Löb.

(Aus der chemischen Abteilung des Virchow-Krankenhauses, Berlin.)

(Eingegangen am 11. November 1914.)

Durch die bekannten Versuche von Lobry de Bruyn und van Eckenstein[2]) über die Einwirkung von Natronlauge auf Traubenzucker ist die starke, von vielen Forschern bestätigte Wirkung der Hydroxylionen zuerst festgestellt worden. Michaelis und Rona[3]) zeigten dann unter Benutzung des Phosphatgemisches als Regulator der Ionenkonzentration, daß die geringe Alkalität des Blutes bei 37° bei längerer Einwirkung nicht ausreicht, eine Drehungsänderung der Zuckerlösung zu veranlassen. Demgegenüber hat Löb[4]) darauf hingewiesen, daß die Glykolyse im Blut in Gegenwart von Salzen, Kolloiden usw. verläuft, daß über den Einfluß dieser im Blut gelösten Stoffe auf die OH'-Wirkung noch nichts bekannt und die normale Glykolyse ein Oxydationsvorgang ist, die Ionenwirkungen bei Blutalkalescenz mithin in Gegenwart von Sauerstoff geprüft werden müssen. In der Tat fand er, daß die durch Phosphatlösungen hergestellte Alkalität des Blutes genügt, um unter der Einwirkung von Wasserstoffperoxyd eine deutliche Glykolyse zu veranlassen.

---

[1]) Vgl. die früheren Mitteilungen: diese Zeitschr. **29**, 317, 1910; **32**, 43, 1911; **46**, 288, 1912.

[2]) Recueil des travaux chimiques des Pays-Bas **18**, 309.

[3]) Diese Zeitschr. **23**, 364, 1910.

[4]) Diese Zeitschr. **29**, 317, 1910.

Da organische Phosphorverbindungen und phosphorsaure Salze bei der alkoholischen Gärung beschleunigend wirken, wie die Untersuchungen von Harden und Young[1]) und von Buchner und Antoni[2]) zeigen, so liegt die Möglichkeit nahe, daß auch bei der oxydativen Glykolyse die Phosphate eine wichtige biologische Rolle spielen, wie z. B. die einer Katalyse der OH′-Wirkung. Handelt es sich hierbei um eine ausgesprochene Phosphationenwirkung, so kann es auch nicht mehr gleichgültig sein, durch welche der von Sörensen und Michaelis und Rona vorgeschlagenen Salzgemische die OH′-Konzentrationen geregelt werden; im Gegenteil, es wird dann für eine ganze Reihe biologischer Vorgänge, vornehmlich in der Enzymchemie, von großer Wichtigkeit sein, die spezifischen Ionenwirkungen zu kennen, um nicht bei der Herstellung bestimmter Ionenkonzentrationen unbekannte, aber für den Verlauf der Reaktionen maßgebende Versuchsbedingungen zu schaffen. Es ergab sich daher die Aufgabe, verschiedene Reaktionsregulatoren auf ihre spezifische Wirkung bei der Glykolyse zu prüfen.

Der Inhalt der III. Mitteilung[3]), der sich dem der vorliegenden, aus äußeren Gründen erst jetzt zur Veröffentlichung gelangenden IV. Mitteilung anschließt, stützt sich auf das wesentliche Ergebnis der letzteren, daß in der Tat den Phosphationen eine besondere Rolle in der Glykolyse zukommt, die den anderen geprüften Ionenregulatoren fehlt. Es handelt sich in der III. Mitteilung um die schon in der II. hervorgehobene Erscheinung der Hemmung der Phosphatglykolyse durch andere Substanzen. Diese Schutzwirkung für den Zucker gegen die oxydative Phosphatglykolyse kommt neben anderen Substanzen den ersten Abbauprodukten des Eiweißes, den Albumosen und Peptonen, in hervorragendem Maße zu. Es war nun von besonderem Interesse, festzustellen, wie sich die Ionenkonzentrationsregulatoren Borat und Glykokoll hinsichtlich der Hemmung der Phosphatglykolyse verhalten. Löb und Gutmann fanden, daß die biologisch bedeutungslosen Borsäureionen ohne Einfluß auf die Phosphatglykolyse sind, während das Glykokoll, ähnlich wie ein Pepton, die Glykolyse trotz der

[1]) Proc. Chem. Soc. **21**, 189, 1905.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **46**, 136, 1905.

[3]) Löb und Gutmann, diese Zeitschr. **46**, 288, 1912.

Gegenwart der Phosphate nahezu vollständig zum Stillstand bringt. Die Phosphate und eine einfache Aminosäure, Substanzen, die im Gegensatz zur Borsäure an vielen biologischen Vorgängen beteiligt sind, wirken also in ausgeprägtem, wenn auch antagonistischem Sinne auf die Zuckeroxydation ein.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Feststellung der Sonderstellung der Phosphate gegenüber dem Borat und dem Glykokoll bezüglich ihres Einflusses auf die Verbrennung des Zuckers durch Wasserstoffperoxyd.

Daneben erschien es notwendig, auch die Natur der durch die oxydative Glykolyse geschaffenen Substanzen möglichst festzustellen. Dieser Teil der Untersuchung schließt sich an die früheren Arbeiten Löbs[1]) über die Zuckerspaltungen an, die zu der Anschauung führten, daß der natürliche Aufbau und Abbau des Zuckers nicht nur biologisch, sondern auch chemisch umkehrbare Reaktionen vorstellen. Die Beziehung dieser Arbeiten zu dem Problem der oxydativen Glykolyse geht aus der schon wiederholt betonten Auffassung hervor, daß der biologischen Zuckeroxydation die Spaltung des Zuckermoleküls vorausgeht und die Oxydationsvorgänge erst bei den Spaltungsprodukten einsetzen.

Zur Stütze seiner Anschauung, daß die Spaltungen, die intramolekularen Umsetzungen und Oxydationen zunächst unter Lösung der Aldolbindungen erfolgen, der Abbau also die Umkehr der Synthese ist, führte Löb[2]) die anodische Oxydation der Glucose, des Glycerins und des Glykols aus, die vor allem dem Nachweis sich etwa bildenden Formaldehyds dienten. Die Glucoseoxydation ergab: Formaldehyd, Ameisensäure, Polyoxysäuren und eine Pentose, wahrscheinlich d-Arabinose; die Glycerinoxydation: Formaldehyd, Ameisensäure, Polyoxysäuren und überraschenderweise in der sauren Versuchslösung eine Pentose, deren Bildung eine Spaltung des durch Oxydation entstandenen Glycerinaldehyds vorausgehen muß. Die Elektrolyse des Glykols ergab: neben reicher CO_2- und CO-Entwicklung Ameisensäure, Formaldehyd, geringe Mengen eines Zuckers und Polyoxysäuren.

Das Auftreten der Pentose bei der Elektrolyse des Traubenzuckers und des Glycerins und die Anschauung, daß Pentose

---

[1]) Diese Zeitschr. 23, 10, 1909; 26, 231, 1910 u. a. a. O.

[2]) Diese Zeitschr. 17, 130, 343, 1909.

und Formaldehyd die ersten für die theoretische Deutung der tierischen und pflanzlichen Glykolysen bedeutungsvollen Phasen der Zuckerspaltung sind, veranlaßten Löb, diese beiden Substanzen in verschiedenen Systemen aufzusuchen. So untersuchte er die Umkehrung der Zuckersynthese von Lobry de Bruyn und van Eckenstein aus Formaldehyd, indem er Bleihydroxyd bei 70° auf Glucose einwirken ließ. Dabei entstanden: Ameisensäure, Polyoxysäuren, Formaldehyd und Pentose. Auch bei Einwirkung von Natronlauge bei gewöhnlicher Temperatur und bei 37°, mit und ohne Wasserstoffperoxyd, ließ sich Formaldehyd und Pentose nachweisen. Für die Theorie ist das Ergebnis der elektrolytischen Reduktion des Traubenzuckers von Bedeutung, daß auch hierbei neben Formaldehyd Pentose, mit der Bialschen Reaktion, als Osazon und durch die Tollenssche Methode sichergestellt, sich bildet. Auch ließ sich die Pentosenbildung bei der Zuckersynthese nach Lobry de Bruyn und van Eckenstein und bei der Oxydation der Glucose mit Wasserstoffperoxyd bei Gegenwart der durch Eisensalz erhaltenen Fällung eines alkoholischen Pankreasextraktes[1]) nachweisen.

Bei der Untersuchung der durch die oxydative Glykolyse erhältlichen Substanzen war deshalb, um die allgemeine Gleichartigkeit der Reaktionen festzustellen, das Hauptaugenmerk auf die Möglichkeit der Formaldehyd- und Pentosenbildung gerichtet.

Experimenteller Teil.

Die zunächst beschriebenen Versuche behandeln eine Reihe von Fragen, die untereinander in engem Zusammenhang stehen. Nach der Feststellung, daß die Phosphate die Traubenzuckeroxydation durch Wasserstoffperoxyd beschleunigen, war es von Interesse zu prüfen, erstens, ob diese Wirkung lediglich durch die Wasserstoff- und Hydroxylionenkonzentration veranlaßt ist, also auch andere Zusätze, die die gleichen Ionenkonzentrationen erzeugen, den gleichen Effekt ausüben, oder ob es sich um eine ganz spezifische Wirkung der Phosphate handelt; zweitens drängte sich die Frage auf, ob die beobachtete Oxydationsbeschleunigung auf den Traubenzucker beschränkt ist oder ob

[1]) Diese Zeitschr. 29, 317, 1910.

auch andere, den Zuckerarten chemisch nahestehende Substanzen, wie Formaldehyd und Glykolaldehyd, ein gleiches Verhalten zeigen. Daneben war zu entscheiden, welche Wirkungen die absoluten Mengen der Zusätze bei gleichen Ionenkonzentrationen hervorrufen, ob es sich um eine Kationen- oder Anionen- oder um molekulare Wirkung handelt und ob aus der chemischen Untersuchung der Produkte der Oxydation ein Einblick in den Oxydationsmechanismus gewonnen werden kann.

Als Regulatoren der OH′-Konzentration wurden neben den Phosphaten die von Sörensen[1]) empfohlenen Glykokoll-Natronlauge- und Natriumborat-Salzsäure-Gemische verwandt. Die H˙- und OH′-Konzentrationen können mit Hilfe dieser Regulatoren fast gleich eingestellt werden. Dann bestehen die Verschiedenheiten der Mischungen bezüglich der Ionen nur in den Anionen. Die Kationen sind in allen Fällen H˙ und Na˙ (bzw. in einigen Versuchen K˙); Anionen aber sind neben den in allen Fällen vorhandenen OH′ in der ersten Mischung die der Phosphorsäure, in der zweiten die der Borsäure, in der dritten die des Glykokolls. So läßt sich die Frage als die nach einer spezifischen Anionenwirkung bezeichnen. Da, wie eben erwähnt, neben dem Traubenzucker auch das Verhalten des Formaldehyds und Glykolaldehyds untersucht wurde, so ergibt sich für den experimentellen Teil dieser Arbeit die folgende Disposition:

A. Der Vergleich der Borat- und Phosphat-Anionenwirkung

1. bei dem Traubenzucker,
2. bei dem Glykolaldehyd,
3. bei dem Formaldehyd.

B. Der Vergleich der Glykokoll- und Phosphat-Anionenwirkung

1. bei dem Traubenzucker,
2. bei dem Formaldehyd,
3. bei dem Glykolaldehyd.

C. Der Einfluß der absoluten Mengen der Regulatorenlösungen

1. beim Traubenzucker,
2. beim Formaldehyd,
3. beim Glykolaldehyd.

[1]) Diese Zeitschr. **21**, 159, 1909.

D. Der Einfluß des Wasserstoffionenexponenten der Phosphate

1. beim Traubenzucker,
2. beim Formaldehyd,
3. beim Glykolaldehyd.

Als letzter Teil schließt sich an:

E. Die Untersuchung der Oxydationsprodukte.

Vorbemerkungen.

Zur Herstellung der zur Regulation der Ionenverhältnisse dienenden Salzgemische wurden die Vorschriften von Sörensen[1]) und Michaelis[2]) benutzt. Fast für alle Oxydationsreihen wurden die Mischungen jedesmal frisch hergestellt. Die absolute Konzentration der Regulatoren kann innerhalb weiter Grenzen schwanken, da die Ionenkonzentration nur vom Verhältnis der Komponenten bestimmt ist; so kamen von den Phosphatlösungen sowohl die von Michaelis vorgeschlagenen $^1/_3$ m- wie die von Sörensen benutzten $^1/_{15}$ m-Lösungen zur Verwendung.

Die im Hinblick auf die Blutalkalität gewählten Mischungsverhältnisse und die denselben entsprechenden Wasserstoff-Ionenkonzentrationen, die nach Sörensens Vorschlag in der Form des Wasserstoffionenexponenten ausgedrückt sind, zeigt folgende Tabelle:

Mischungsverhältnisse äquimol. Lösungen sekund. Phosphat ccm	primär. Phosphat ccm	H'-Exponent p_H	Mischungsverhältnisse äquimol. Lösungen ccm	H'-Exponent p_H
9,9	0,1	8,171	5,5 Boratlösung 4,5 HCl	7,939
9,75	0,25	8,038		
9,5	0,5	7,863		
9,0	1,0	7,648	5,25 Boratlösung 4,75 HCl	7,621
8,0	2,0	7,347		
7,0	3,0	7,146		
6,0	4,0	6,976	9,9 Glykokollösung 0,1 NaOH	7,809
5,0	5,0	6,813		
4,0	6,0	6,643		
3,0	7,0	6,468	9,75 Glykokollösung 0,25 NaOH	8,237
2,0	8,0	6,239		
1,0	9,0	5,910		

[1]) Diese Zeitschr. 21, 131, 1909.

[2]) Abderhaldens Handb. der biochem. Arbeitsmethoden 3, 1344, 1910.

Die Traubenzuckerlösungen wurden aus reinster Glucose (Kahlbaum) hergestellt. Der Glykolaldehyd wurde nach der von Nef verbesserten Fentonschen Methode gewonnen und der Gehalt der Lösungen durch das Reduktionsvermögen gegen Fehlingsche Lösung festgestellt. Die Formaldehydlösungen ließen sich nach der Destillation des käuflichen $40^0/_0$igen sauren Formaldehyds über Calciumcarbonat durch Verdünnen mit Wasser herstellen, ihr Gehalt durch Jodtitration ermitteln. Die Wasserstoffperoxydlösungen resultierten durch entsprechende Verdünnung des $30^0/_0$igen Perhydrols von Merck.

Die quantitativen Versuche wurden im allgemeinen in der Art angesetzt, daß je 25 ccm der Aldehyd- bzw. Zuckerlösung mit 25 ccm Wasserstoffperoxydlösung und 10 ccm oder mehr der Salzmischungen in Erlernmeyer-Kölbchen bei 37° im Brutschrank gehalten und nach bestimmten Zeitintervallen Proben zur Analyse entnommen wurden. Die analytischen Methoden bestanden im wesentlichen in der Feststellung der Abnahme des Aldehyds oder Zuckers.

Bei den Versuchen mit Traubenzucker wurde die Drehung der Polarisationsebene im 10-cm-Rohr und der Reduktionswert gegenüber einer Fehlingschen Lösung festgestellt: 10 ccm der Reaktionsflüssigkeit wurden nach Zusatz von 25 ccm Fehlingscher Lösung genau 6 Minuten gekocht, dann sofort mit 100 ccm Wasser verdünnt, das ausgeschiedene Kupferoxydul auf dem Gooch-Tiegel gesammelt und nach dem Auswaschen mit heißem Wasser, Alkohol und Äther im Toluolbad getrocknet; aus dem gewogenen Kupferoxydul ergab sich nach den Allihnschen Tabellen die Zuckermenge. Das Wasserstoffperoxyd übt keinen Einfluß auf die Reduktion mit Fehlingscher Lösung aus.

Die Formaldehydbestimmung in Gegenwart des Wasserstoffperoxyds läßt sich in der Weise ausführen, daß man zunächst in saurer Lösung Jodkalium zugibt, wobei eine Einwirkung auf den Formaldehyd nicht stattfindet. Nach Zersetzung des gesamten Peroxyds wird dann, nötigenfalls unter Zusatz von Jodlösung, der Formaldehyd in alkalischer Flüssigkeit bestimmt. Da die Geschwindigkeit der Jodkaliumzersetzung durch Wasserstoffperoxyd von der Menge der zugesetzten Säure und der Jodkaliumkonzentration abhängt, so wurden alle Bestimmungen in genau derselben Weise ausgeführt: 10 ccm der Reaktions-

lösung wurden mit 1,5 ccm 25 $^0/_0$iger HCl und 10 ccm einer 5 $^0/_0$igen Jodkaliumlösung im Meßkölbchen auf 50 ccm verdünnt; nach 3 Stunden ist alles Wasserstoffperoxyd zersetzt; in 25 ccm wird das ausgeschiedene Jod mit $^1/_{10}$ n-Thiosulfatlösung bestimmt; zu den restierenden 25 ccm wurden noch 20 ccm $^n/_{10}$ n-Jodlösung zugegeben und so lange Natronlauge zugetropft, bis gerade der Umschlag in Gelb erfolgte; nach weiteren 3 Stunden folgt dann nach dem Ansäuern die Jodtitration des Formaldehyds. Für die Formaldehydbestimmung ist also die Summe des durch Peroxyd in Freiheit gesetzten Jods und des später noch zugefügten zu berücksichtigen.

Bei der Unsicherheit in der Verwertung des Reduktionswertes des Glykolaldehyds gegenüber der Fehlingschen Lösung für einen Schluß auf die tatsächlich vorhandene Aldehydmenge wurde lediglich die durch 10 ccm der Versuchslösung erhaltene Kupferoxydulmenge ermittelt und ihr Wert ohne weitere Umrechnung in die Tabellen aufgenommen.

Der ursprüngliche Zucker- bzw. Aldehydgehalt wurde vor Beginn einer Versuchsreihe in der Reaktionsflüssigkeit stets besonders festgestellt.

Versuchsergebnisse.

A. Der Vergleich der Phosphat- und Borat-Anionenwirkung.

1. Traubenzuckeroxydation.

Die Resultate, die in der folgenden Tabelle I angegeben sind, beziehen sich auf je 2 Borat- und Phosphatzusätze zu dem Zucker-Wasserstoffperoxydgemisch. Die Übereintsimmung der Wasserstoff-Ionenexponenten ist nicht genau, aber doch genügend, um sichere Schlußfolgerungen zu gestatten. In den Konzentrationsverhältnissen der Reaktionsregulatoren herrscht freilich ein großer Unterschied, indem die Phosphatlösungen $^1/_8$ molekular, die Boratlösungen $^1/_{10}$ normal sind, wodurch aber, wie schon erwähnt, die Ionenkonzentrationsverhältnisse nicht beeinflußt werden.

Das Ergebnis der Oxydation ist folgendes: Durch die Phosphate wird, wie ja schon festgestellt war, eine erhebliche Glykolyse in 20 und 44 Stunden erzielt, während der Boratzusatz auf die Oxydationsgeschwindigkeiten ohne Einfluß bleibt. Nach 44 Stunden sind unter der Einwirkung der Phosphat-

lösungen in 10 ccm 42 und 43 mg Zucker verschwunden, während für die Boratlösungen die entsprechenden Werte, 25 und 26 mg, nicht größer sind als der der Oxydation in der Kontrollösung. Hand in Hand mit der fortschreitenden Oxydation geht die durch sie entstehende Säurung der Lösungen, die am Schluß der Versuchsreihe für die Phosphate einen mehr als viermal so großen Wert besitzt als für die der Borate und und der Lösung ohne Salzzusatz. Man muß also schließen, daß die Borate, trotz der gleichen Wasserstoff-Ionenkonzentration (und OH'-Konzentration) die Phosphate nicht zu ersetzen vermögen. Daß auch die absoluten Mengen der Borate keinen Unterschied in dem Befund zeigen, wird später dargetan.

Tabelle I.

Vergleich der Borat- und Phosphat-Anionenwirkung.
Glucose-Oxydation: 25 ccm Zucker- + 25 ccm H_2O_2- + 10 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionenexpon. p_H	Polarisation nach 20 Std. °C	Polarisation nach 44 Std. °C	In 10 ccm bleibende Zuckermenge nach 20 Std. g	Glykolyse mg	44 Std. g	Glykolyse mg	Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	10 H_2O	7,07	0,48	0,45	0,0744	24	0,0723	26	0,35	0,35
1	5,5 Boratlösung + 4,5 HCl	7,939	0,47	0,46	0,0723	26	0,0725	26	0,40	0,63
2	5,25 Boratlösung + 4,75 HCl	7,621	0,47	0,46	0,0737	27	0,0732	26	0,45	0,60
3	9,5 sek. + 0,5 prim. Phosphat	7,863	0,33	0,15	0,0627	36	0,0458	43	0,75	2,5
4	9,0 sek. + 1,0 prim. Phosphat	7,642	0,33	0,15	0,0646	34	0,0466	42	0,65	2,65

Zu Anfang: Drehung: 0,52° (10-cm-Rohr).
In 10 ccm: 0,0987 g Zucker.

2. Formaldehydoxydation.

Die mit dem Formaldehyd erhaltenen Resultate gehen aus den Tabellen II und III hervor. Die angewandte Formaldehydlösung war 2%ig. Die Tabellen zeigen deutlich, daß die schon durch H_2O_2 ohne jeden Zusatz eintretende Oxydation durch die Phosphate eine ganz erhebliche Steigerung erfährt, während die Borate eine nicht annähernd so starke Wirkung besitzen. Das Optimum der Formaldehydoxydation liegt inner- der untersuchten Grenze bei einem Wasserstoff-Ionen- nent von ca. 7,9. Auch unter Verwendung der Borate

ist hier eine Begünstigung der Oxydation bei dieser Ionenkonzentration unverkennbar, jedoch bleibt am Schluß der Versuchsreihe die Menge des oxydierten Formaldehyds um mehr als das dreifache hinter der durch die Wirkung der Phosphate erzielten zurück. Man sieht aus dem nach 20stündiger Versuchsdauer erhaltenem Resultat, daß unter der Einwirkung der Phosphate die Oxydation mit relativ großer Beschleunigung einsetzt, während die Boratlösungen kaum einen Unterschied gegenüber dem Versuch mit reinem Wasser aufweisen. Die mitgeteilten Aciditätswerte lassen in diesem Fall keinen Schluß zu, da der Formaldehyd zum Teil zweifellos bis zur Kohlensäure verbrannt wird, und gerade bei der starken Phosphat-Oxydation ihre Bildung beträchtlich sein dürfte. Sie entzieht sich aber durch teilweises Entweichen der genauen Titration.

Tabelle II.

Vergleich der Borat- und Phosphat-Anionenwirkung.

Formaldehyd-Oxydation: 25 ccm Aldehyd- + 25 ccm H_2O_2- + 10 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugsetzte Salzlösungen ccm	Ionen-expon. p_H.	In 60 ccm oxydierter Formaldehyd nach 20 Std. g	44 Std. g	Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	10 H_2O	7,07	0,0093	0,0154	0,18	0,37
1	5,5 Boratlsg. + 4,5 $^1/_{10}$ n-HCl	7,939	0,0138	0,0250	0,65	0,75
2	5,25 „ + 4,75 „	7,621	0,0138	0,0207	0,58	0,81
3	9,9 sek. + 0,5 prim. Phosphat	7,863	0,0198	0,0310	0,58	0,75
4	9,0 „ + 1,0 „ „	7,643	0,0243	0,0320	0,61	0,85

Tabelle III.

Vergleich der Borat- und Phosphat-Anionenwirkung.

Formaldehyd-Oxydation: 25 ccm Aldehyd- + 25 cm H_2O_2- + 25 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte Salzlösung ccm	Ionen-expon. p_H.	In 60 ccm oxydierter Formaldehyd nach 20 Std. g	44 Std. g	Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	10 H_2O	7,07	0,0043	0,0076	0,25	0,30
1	5,5 Boratlsg. + 4,5 $^1/_{10}$ n-HCl	7,939	0,0046	0,0112	0,75	0,96
2	5,25 „ + 4,75 „	7,621	0,0013	0,0040	0,82	1,10
3	9,5 sek. + 0,5 prim. Phosphat	7,863	0,0289	0,0359	0,66	0,83
4	9,0 „ + 1,0 „ „	7,642	0,0129	0,0281	0,82	1,00

Auch selbst einem so einfachen Körper, wie dem Formaldehyd, gegenüber tritt mithin die Sonderstellung der Phosphate deutlich in die Erscheinung.

3. Glykolaldehyd-Oxydation.

Ausgeprägter als beim Formaldehyd sind die Erscheinungen beim Glykolaldehyd, der sich in seinem Verhalten enger an den Traubenzucker anschließt. Hier scheint der Zusatz der Borate in gewissem Sinn eine direkte Hemmung der Oxydation herbeizuführen, wenigstens ist der Gehalt an reduzierenden Substanzen nach beendetem Versuch in ihrer Gegenwart größer als bei Wasserzusatz, während die Phosphatwirkung die Menge der reduzierenden Substanz nach 44 Stunden unter $^1/_3$ bzw. $^1/_2$ derjenigen Menge herabgedrückt hat, die bei Verwendung der Borate oder von Wasser in der Lösung zurückbleibt. Die Abnahme der Acidität bei den Phosphatversuchen während des Versuchs deutet darauf hin, daß auch hier die Oxydation bis zur Kohlensäure, die entweicht, geht.

Tabelle IV.

Vergleich der Borat- und Phosphat-Anionenwirkung.

Glykolaldehyd-Oxydation: 25 ccm Aldehyd- + 25 ccm H_2O_2- + 10 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionenexpon. $p_{H'}$	Cu_2O-Menge in 10 ccm der Lösung nach 20 Std. g	44 Std. g	Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	10 H_2O	7,07	0,0143	0,0100	0,16	0,38
1	5,5 Boratlsg. + 4,5 $^1/_{10}$ n-HCl	7,939	0,0160	0,0146	0,76	0,88
2	5,25 „ + 4,75 „	7,621	0,0182	0,0160	0,68	0,88
3	9,5 sek. + 0,5 prim. Phosphat	7,863	0,0075	0,0056	1,00	0,45
4	9,0 „ + 1,0 „ „	7,642	0,0085	0,0044	1,08	0,65

B. Vergleich der Glykokoll- und Phosphat-Anionenwirkung.

1. Traubenzucker-Oxydation.

Der Gegensatz zwischen Phosphat- und Glykokollwirkung ist nicht weniger ausgeprägt als der zwischen Phosphat- und Boratwirkung. Um den durch Glykokoll-Natronlauge erreichbaren Ionenkonzentrationen, ca. $p_{H'} = 7,07$, nahe zu bleiben, wurde die Phosphatmischung um eine Variante vermehrt, wie aus den Tabellen ersichtlich. Deutlich zeigt sich, daß der Glykokoll-

zusatz nicht nur in keiner Weise die Phosphate zu ersetzen vermag — die Glykolyse beträgt etwa nur $^1/_8$ der Phospatglykolyse —, sondern auch, daß gegenüber dem Versuch ohne jeden Zusatz durch Glykokoll eine direkte Hemmung ausgeübt wird. Da bei dem Traubenzucker die Oxydation nur in geringem Maße bis zur Kohlensäure fortschreitet, so bleibt hier die Acidität der Glykolyse entsprechend.

Tabelle V.
Vergleich der Glykokoll- und Phosphat-Anionenwirkung.
Glucose-Oxydation: 22 ccm Zucker- + 25 ccm H_2O_2- + 10 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionenexpon. p_H	Polarisation nach		In 10 ccm bleibende Zuckermenge nach				Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach	
			20 Std. °C	44 Std. °C	20 Std. g	Glykolyse mg	44 Std. g	Glykolyse mg	20 Std.	44 Std.
0	10 H_2O	7,07	0,44	0,32	0,0762	22	0,0677	30	0,18	0,95
1	9,9 Glykokolllösung + 0,1 $^1/_{10}$ n-NaOH .	7,809	0,45	0,33	0,0774	20	0,0718	26	0,12	0,60
2	9,75 Glykokollösung + 0,25 $^1/_{10}$ n-NaOH .	8,237	0,46	0,33	0,0793	19	0,0784	24	0,10	0,67
3	9,9 sek. + 0,1 prim. Phosphat	8,171	0,24	0,06	0,0535	44	0,0291	69	2,18	2,82
4	9,75 sek. + 0,25 prim. Phosphat	8,038	0,25	0,08	0,0529	45	0,0328	65	2,15	2,87
5	9,5 sek. + 0,5 prim. Phosphat	7,863	0,24	0,06	0,0542	44	0,0360	62	2,10	2,92

2. Formaldehyd-Oxydation.

Auch bei dem Formaldehyd wiederholt sich das Bild, das sich bei dem Vergleich der Phosphat- und Boratwirkung gezeigt hat. Nicht nur wird durch den Phosphatzusatz eine erhebliche Beschleunigung der Formaldehyd-Oxydation gegenüber der bei dem Glykokoll- und Wasserzusatz beobachteten festgestellt, sondern das Glykokoll hemmt die Oxydation gegenüber dem Versuch ohne jeden Zusatz in augenfälliger Weise. Nach 20stündiger Versuchsdauer ist durch die Phosphate bei einem Ionenexponenten von ca. 7,8 mehr als 3mal soviel oxydiert wie ohne Salzzusatz und fast 10mal soviel, wie in Gegenwart des Glykokolls. Nach 44stündiger Versuchsdauer hat sich das Verhältnis zwar etwas zugunsten des Glykokolls verschoben, doch bleibt die durch den Phosphatzusatz bewirkte Oxydation noch mehr als 3mal so stark als die durch Glykokoll, und diese wieder bleibt hinter der der Kontrollösung zurück. Bei dieser

geringen Oxydation ist es erklärlich, daß, trotzdem bei der Phosphatglykolyse ein Teil des Formaldehyds bis zur Kohlensäure verbrannt wird, die erzielte Ansäuerung in Gegenwart der Phosphate immer noch beträchtlicher ist als die des Glykokollversuchs; jedenfalls aber steht aus den schon erörterten Gründen die Zunahme der Acidität in keinem Verhältnis zu der Formaldehyd-Oxydation, wie sie die Tabelle ergeben hat.

Tabelle VI.

Vergleich der Glykokoll- und Phosphat-Anionenwirkung.
Formaldehyd-Oxydation: 25 ccm Aldehyd- + 25 ccm H_2O_2- + 10 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionenexpon. p_H.	In 60 ccm oxydiertes Formaldehyd nach 20 Std. g	44 Std. g	Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	10 H_2O	7,07	0,0093	0,0176	0,20	0,27
1	9,9 Glykokollösg. + 0,1 $^1/_{10}$ n-NaOH	7,809	0,0036	0,0138	0,20	0,36
2	9,75 Glykokollösg. + 0,25 $^1/_{10}$ n-NaOH	8,237	0,0066	0,0133	0,25	0,37
3	9,9 sek. + 0,1 prim. Phosph.	8,171	0,0216	0,0367	0,55	0,80
4	9,75 „ + 0,25 „ „	8,038	0,0266	0,0493	0,65	0,86
5	9,5 „ + 0,5 „ „	7,863	0,0340	0,0413	0,65	0,75

3. Glykolaldehyd-Oxydation.

Die mit dem Glykolaldehyd erzielten Versuchsergebnisse sind im Einklang mit dem am Traubenzucker beobachteten. Auch hier ist die Beschleunigung der Oxydation durch den Phosphatzusatz ebenso ausgeprägt, wie die hemmende Wirkung des Glykokolls gegenüber dem Versuch mit reinem Wasser. Im Einklang mit dem früheren Resultat steht die Zunahme der Acidität bei den Phosphatversuchen, wobei besonders hervorzuheben ist, daß die nach 20stündiger Versuchsdauer bis zum Schluß des Versuchs noch eintretende weitere Säuerung durch ihre Geringfügigkeit darauf hinweist, daß ein Teil des Glykolaldehyds bis zur Kohlensäure verbrannt wird. Besonders deutlich ist diese Erscheinung bei dem letzten, fünften Versuch der Tabelle, bei dem sogar eine Abnahme des Säuretiters in den letzten 24 Stunden eingetreten ist, was sich nur durch teilweises Entweichen von Kohlensäure erklären läßt. Bei der Untersuchung der Oxydationsprodukte wurde tatsächlich festgestellt,

daß bei der Traubenzucker-, Glykolaldehyd- und Formaldehyd-Oxydation durch H_2O_2 relativ beträchtliche Mengen Kohlensäure gebildet werden.

Tabelle VII.

Vergleich der Glykokoll- und Phosphat-Anionenwirkungen.
Glykolaldehyd-Oxydation: 25 ccm Aldehyd- + 25 ccm H_2O_2 + 10 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionen-expon. $p_{H^{\cdot}}$	Cu_2O-Menge in 10 ccm der Lösung nach 20 Std. g	44 Std. g	Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	10 H_2O	7,07	0,0200	0,0200	0,17	0,37
1	9,9 Glykokollösg. + 0,1 $^1/_{10}$ n-NaOH	7,809	0,0264	0,0268	0,17	0,30
2	9,75 Glykokollösg. + 0,25 $^1/_{10}$ n-NaOH	8,237	0,0266	0,0263	0,17	0,30
3	9,9 sek. + 0,1 prim. Phosph.	8,171	0,0174	0,0134	0,63	0,73
4	9,75 „ + 0,25 „ „	8,038	0,0178	0,0138	0,69	0,75
5	9,5 „ + 0,5 „ „	7,863	0,0148	0,0109	0,92	0,70

C. Der Einfluß der absoluten Konzentrationen der Zusätze.

1. Der Einfluß der Regulatormengen auf die Oxydation des Traubenzuckers.

Um über die Bedeutung der absoluten Mengen der Phosphatanionen für die Zuckerzerstörung Aufschluß zu erhalten, wurde in zweierlei Weise verfahren. Erstens wurde untersucht, wie die Glyokolyse verläuft, wenn man bei gleichbleibender Ionenkonzentration, d. h. bei gleichbleibendem Verhältnis des primären und sekundären Phosphats, verschiedene Mengen dieser isohydrischen Gemische zu der Reaktionslösung setzt (Tab. VIII, IX, XII). Zweitens wurden in den Tabellen X und XI die Versuche derart angeordnet, daß die aufeinanderfolgenden Versuche immer kleiner werdende $H^{\cdot}$-Konzentrationen, die gleichen Nummern beider Tabellen dasselbe Mischungsverhältnis der Phosphate, aber die der zweiten Tabelle die doppelte Anzahl Kubikzentimeter an Phosphaten enthalten. Alle Versuche sind so angesetzt worden, daß das Gesamtvolumen der Reaktionslösung das gleiche, und zwar 75 ccm, blieb, wobei wieder ein Versuch, in dem die Salzlösung durch Wasser ersetzt ist, als Kontrolle diente. Die Resultate, in den Tabellen VIII bis XII zusammengestellt, sind die folgenden: Bei gleichbleibender $H^{\cdot}$-Konzentra-

tion steigt die Glykolyse mit der Zunahme der absoluten Menge der Phosphate innerhalb der untersuchten Bereiche. Diese Tatsache wurde für die drei Wasserstoff-Ionenexponenten p_H 7,146, 7,347 und 7,863 in den Tabellen VIII, IX und XII festgestellt. Wie in ihnen angegeben ist, wurde nach und nach die beim Nullversuch angewandte Wassermenge durch steigende Mengen der Phosphate ersetzt, und zwar wurde in der Art des Ersatzes variiert, indem einmal, Tabelle VIII und IX, immer im folgenden Versuch die doppelte Menge Phosphate, wie in dem vorhergehenden, zugesetzt wurde, andererseits an Stelle der $^1/_8$ mol. Phosphatlösungen — Versuche der Tabellen VIII und IX — auch $^1/_{15}$ mol. Lösungen — Versuche der Tabelle XII — zur Anwendung gelangten.

Die geringe Glykolyse, die sich in den ersten Versuchen der Reihe 1 bis 6 der Tabellen VIII und IX mit $^1/_8$ mol. Phosphatlösungen zeigt und mit der unter dem Einfluß des reinen Wassers erzielten beinahe übereinstimmt, ist wohl nur auf die zu geringe Konzentration der Phosphate zurückzuführen; bei den $^1/_{15}$ mol. Lösungen der Tabelle XII, in denen gleich zu Anfang größere Mengen Phosphatlösungen zugesetzt wurden, ist der Effekt von Anfang an ein deutlicherer; daß hierbei im ganzen die Glykolyse höhere Werte zeigt, als in den Tabellen VIII und IX, liegt daran, daß bei den Versuchen mit den $^1/_{15}$ mol. Lösungen die gewählte $OH^{\cdot}$-Konzentration eine größere ist. Die Tabellen X und XI zeigen deutlich, daß mit der Zunahme der Alkalität auch die Glykolyse zunimmt. Die Versuchsreihe der Tabelle XII dient auch zum Vergleich mit einer Glykokollversuchsreihe, weshalb die Ionenkonzentration der der Glykokollreihe möglichst nahe gewählt ist.

Um weiter festzustellen, ob der fördernde Einfluß der absoluten Phosphatkonzentration bei verschiedenen $OH^{\cdot}$-Konzentrationen derselbe bleibt, wurden zwei vergleichbare Versuchsreihen, Tabellen X und XI, angestellt, in denen bei gleicher Menge Gesamtflüssigkeit dieselben Ionenkonzentrationen einmal durch 10 ccm, dann durch 20 ccm der Phosphatlösungen hergestellt wurden. Die Tabellen X und XI zeigen, daß bei der für die Glykolyse geeigneten Ionenkonzentration von $p_H = 7,1$ bis 7,4 der Einfluß der absoluten Menge ein sehr erheblicher ist; je saurer die Lösungen werden, desto mehr scheint er zu

schwinden, so daß bei einer Konzentration von $p_{H^{\cdot}} = 5{,}9$ ein Unterschied in beiden Tabellen nicht mehr sichtbar ist. Die OH′-Konzentration ist so gering, daß sie die Lösung der Glykolyse überhaupt nur in verschwindendem Maße zugänglich macht. Der Einfluß der Phosphate hört dann auf, wenn die Konzentration der katalytisch zu beeinflussenden Hydroxylionen unter eine gewisse Grenze gesunken ist.

Tabelle VIII.

Der Einfluß der absoluten Menge der Phosphatlösungen.
Traubenzucker-Oxydation mit $^1/_3$ mol. Phosphatlösungen.
20 ccm Zucker- + 20 ccm H_2O_2- + 25 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte 35 ccm Salzlösung		Ionen-expon.	Polarisation nach		In 10 ccm bleibende Zuckermenge nach				Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach	
	$^1/_3$ mol. Phosphate	Wasser ccm	$p_{H^{\cdot}}$	20 Std. °C	44 Std. °C	20 Std. g	Glykolyse mg	44 Std. g	Glykolyse mg	20 Std.	44 Std.
0	—	35	7,07	0,50	0,50	0,0915	12,5	0,0822	22	0,35	0,42
1	1,6 sek. + 0,4 prim.	33	7,347	0,48	0,46	0,0916	12,5	0,0840	20	0,55	0,72
2	3,2 „ + 0,8 „	31	7,347	0,47	0,45	0,0889	15	0,0785	26	0,95	1,10
3	6,4 „ + 1,6 „	27	7,347	0,47	0,41	0,0875	17	0,0723	32	1,20	1,80
4	12,8 „ + 3,2 „	19	7,347	0,48	0,38	0,0894	15	0,0740	30	1,40	2,35
5	16,0 „ + 4,0 „	15	7,347	0,45	0,34	0,0842	20	0,0657	38	2,30	3,15
6	25,6 „ + 6,4 „	3	7,347	0,46	0,38	0,0859	19	0,0725	32	2,03	3,17

Der Zuckergehalt der Versuchslösungen war vor Beginn der Glykolyse 0,104 g in 10 ccm.

Tabelle IX.

Der Einfluß der absoluten Mengen der Phosphate.
Traubenzucker-Oxydation mit $^1/_3$ mol. Phosphaten.
20 ccm Zucker- + 20 ccm H_2O_2- + 35 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte 35 ccm Salzlösung		Ionen-expon.	Polarisation nach		In 10 ccm bleibende Zuckermenge nach				Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach	
	$^1/_3$ mol. Phosphate	Wasser ccm	$p_{H^{\cdot}}$	20 Std. °C	44 Std. °C	20 Std. g	Glykolyse mg	44 Std. g	Glykolyse mg	20 Std.	44 Std.
0	—	35	7,07	0,50	0,50	0,0915	12,5	0,0822	22	0,35	0,42
1	1,4 sek. + 0,6 prim.	33	7,146	0,50	0,47	0,0919	12	0,0812	23	0,55	0,75
2	2,8 „ + 1,2 „	31	7,146	0,47	0,46	0,0892	15	0,0815	23	0,95	1,30
3	5,6 „ + 2,4 „	27	7,146	0,51	0,45	0,0922	12	0,0783	26	0,92	1,90
4	11,2 „ + 4,8 „	19	7,146	0,47	0,37	0,0899	14	0,0682	36	2,00	2,37
5	14,0 „ + 6,0 „	15	7,146	0,44	0,34	0,0840	20	0,0662	38	2,40	3,60
6	22,4 „ + 9,6 „	3	7,146	0,43	0,32	0,0815	23	0,0612	43	3,60	4,65

Tabelle X.

Traubenzucker-Oxydation mit $^1/_3$ mol. Phosphaten.
25 ccm Zucker- + 25 ccm H_2O_2- + 25 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte 35 ccm Salzlösung		Ionenexpon.	Polarisation nach		In 10 ccm bleibende Zuckermenge nach				Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach	
	$^1/_3$ mol. Phosphate	Wasser ccm	p_H·	20 Std. °C	44 Std. °C	20 Std. g	Glykolyse mg	44 Std. g	Glykolyse mg	20 Std.	44 Std.
0	—	15	7,07	0,51	0,50	0,0895	10,5	0,0905	11	0,20	0,20
1	8 sek. + 2 prim.	15	7,347	0,39	0,24	0,0735	28	0,0613	39	1,60	2,40
2	7 „ + 3 „	15	7,146	0,43	0,32	0,0820	19	0,0672	33	1,40	2,63
3	5 „ + 5 „	15	6,813	0,45	0,33	0,0835	17	0,0713	29	1,83	2,60
4	4 „ + 6 „	15	6,643	0,51	0,33	0,0881	12	0,0740	26	1,70	2,50
5	2 „ + 8 „	15	6,239	0,47	0,38	0,0857	14	0,0795	21	2,25	2,56
6	1 „ + 9 „	15	5,910	0,49	0,47	0,0900	10	0,0870	13	2,25	2,60

Tabelle XI.

Der Einfluß der absoluten Menge der Phosphate.
Traubenzucker-Oxydation: Vergleich mit Tabelle X mit der doppelten Menge Phosphate.
25 ccm Zucker- + 25 ccm H_2O_2- + 20 ccm Salzlösung + 5 ccm H_2O.

Nummer	Zugesetze Salzlösungen		Ionenexpon.	Polarisation nach		In 10 ccm bleibende Zuckermenge nach				Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach	
	$^1/_3$ mol. Phosphate	Wasser ccm	p_H·	20 Std. °C	44 Std. °C	20 Std. g	Glykolyse mg	44 Std. g	Glykolyse mg	20 Std.	44 Std.
0	—	25	7,07	0,51	0,50	0,0895	10,5	0,0905	9	0,20	0,20
1	16 sek. + 4 prim.	5	7,347	0,32	0,14	0,0625	38	0,0445	56	3,00	3,80
2	14 „ + 6 „	5	7,146	0,30	0,17	0,0651	35	0,0509	49	3,25	4,20
3	10 „ + 10 „	5	6,813	0,41	0,22	0,0713	29	0,0560	44	3,60	4,50
4	8 „ + 12 „	5	6,643	0,38	0,25	0,0682	32	0,0585	42	4,00	4,25
5	4 „ + 16 „	5	6,239	0,42	0,33	0,0810	19	0,0733	27	4,25	4,95
6	2 „ + 18 „	5	5,910	0,52	0,47	0,0914	9	0,0890	11	4,00	3,90

Die Lösungen der Tabellen X und XI wurden zu gleicher Zeit oxydiert, ihre Nullösung ist dieselbe, für beide ist die Anfangsdrehung 0,53°, und in 10 ccm sind 0,1 g Glucose.

Auch für die Glykokollösungen der Tabelle XIII besteht ein Einfluß der absoluten Konzentration, der aber niemals zu einer gegenüber den mit Wasser erzielten Resultaten bevorzugten Glykolyse führt, vielmehr zeigt sich, daß durch geringe Glykokollzusätze eine starke Hemmung der ohne Zusatz eintretenden Glykolyse veranlaßt wird, die bei mehr Glykokoll freilich zurückgeht, aber ohne den Wert der Glykolyse der Nullösung nennenswert zu übertreffen. Besonders lehrreich

ist der Vergleich mit den durch $^{1}/_{15}$ mol. Phosphatlösungen (Tabelle XII) auf etwa denselben Ionengehalt gebrachten Versuchen, in denen auch die Mengen der Zusätze vergleichsweise dieselben sind. Bei den geringen Zusätzen in beiden Versuchsreihen (Nr. 1 und 2) übertrifft die Phosphatglykolyse die andere um das dreizehnfache. Das Verhältnis ändert sich bei steigendem Zusatz zwar zugunsten des Glykokolls, aber auch die höchste, durch den größten Glykokollzusatz erreichte Glykolyse wird von der entsprechenden Phosphatglykolyse um mehr als das dreifache übertroffen. Man muß demnach schließen, daß geringe Mengen Glykokoll bei einer der Oxydation günstigen Ionenkonzentration die Zuckerzerstörung hemmen, und daß auch durch größere Mengen Glykokoll eine nennenswerte katalytische Beeinflussung der Hydroxyl-Ionenwirkung nicht erreichbar ist.

Tabelle XII.

Der Einfluß der absoluten Phosphatmenge. Traubenzucker-Oxydation: zum Vergleich mit Tabelle VIII, IX und XIII mit $^{1}/_{15}$ mol. Phosphaten.
20 ccm Zucker- + 10 ccm H_2O_2- + 45 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte 45 ccm Salzlösung		Ionen-expon.	Polarisation nach		In 10 ccm bleibende Zuckermenge nach				Acidität für 5 ccm ($^{1}/_{10}$ n-NaOH) nach	
	$^{1}/_{15}$ mol. Phosphat-gemisch	Wasser ccm	p_H.	20 Std. °C	44 Std. °C	20 Std. g	Glykolyse mg	44 Std. g	Glykolyse mg	20 Std.	44 Std.
0	—	45	7,07	0,43	0,42	0,0884	8	0,0862	11	1,0	2,0
1	9,5 sek. + 0,5 prim.	35	7,863	0,33	0,30	0,0783	18	0,0701	27	2,5	3,70
2	14,25 „ + 0,75 „	30	7,863	0,31	0,30	0,0751	22	0,0656	31	3,0	4,10
3	19,0 „ + 1,0 „	25	7,863	0,30	0,27	0,0738	23	0,0608	36	3,40	4,60
4	23,75 „ + 1,25 „	20	7,863	0,27	0,23	0,0713	25	0,0579	39	3,70	5,30
5	28,5 „ + 1,50 „	15	7,863	0,27	0,23	0,0702	27	0,0558	41	4,10	5,60
6	42,75 „ + 2,25 „	0,0	7,863	0,23	0,19	0,0653	32	0,0469	50	4,85	5,70

Zu Anfang: Drehung: 0,5°; in 10 ccm 0,0967 g Zucker.

Die Lösungen der Tabellen XII und XIII wurden zu gleicher Zeit angesetzt und im Brutschrank oxydiert; deshalb sind ihre Null-Lösungen dieselben.

In der Tabelle XIV ist der Vergleich zwischen $^{1}/_{10}$ n-Glykokoll- und $^{1}/_{15}$ mol. Phosphatlösungen noch für die Ionenkonzentrationen angegeben, die in den Versuchen des Abschnitts B gebraucht sind. Das Bild bleibt dasselbe, der Glykokollzusatz ruft eine Hemmung hervor unter denselben vergleichbaren Bedingungen, bei denen Phosphate eine Beschleunigung veranlassen.

Tabelle XIII.

Der Einfluß der absoluten Mengen der Regulatoren. Traubenzucker-Oxydation: zum Vergleich mit Tabelle XII mit $^1/_{10}$ n-Glykokollösung wachsender Konzentration.

20 ccm Zucker- + 10 ccm H_2O_2- + 45 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte 45 ccm Salzlösung $^1/_{10}$ n-Glykokoll + $^1/_{10}$ n-NaOH + Wasser	Ionenkonz. p_H	Polarisation nach 20 Std. °C	44 Std. °C	In 10 ccm bleibende Zuckermenge nach 20 Std. g	Glykolyse mg	44 Std. g	Glykolyse mg	Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	45 H_2O	7,07	0,43	0,42	0,0884	8,0	0,0862	10,5	1,0	2,0
1	9,9 Glykokoll + 0,1 NaOH + 35 H_2O . .	7,809	0,47	0,48	0,0968	0,0	0,0946	2	0,35	0,60
2	14,85 Glykokoll + 0,15 NaOH + 30 H_2O . .	7,809	0,44	0,44	0,0937	3	0,0912	5	0,55	1,00
3	19,80 Glykokoll + 0,20 NaOH + 25 H_2O . .	7,809	0,47	0,46	0,0935	3	0,0896	7	0,60	1,20
4	24,75 Glykokoll + 0,25 NaOH + 20 H_2O . .	7,809	0,41	0,42	0,0922	6	0,0869	10	0,95	1,60
5	29,75 Glykokoll + 0,30 NaOH + 15 H_2O . .	7,809	0,41	0,40	0,0912	6	0,0837	13	1,00	1,80
6	44,55 Glykokoll + 0,45 NaOH + 0,0 H_2O .	7,809	0,41	0,40	0,0887	8	0,0819	15	1,50	2,20

Zu Anfang: Drehung 0,5° (10-cm-Rohr); in 10 ccm: 0,0967 g Glucose.

Noch deutlicher ist die Wirkung ersichtlich, wenn man die gleichen Ionenkonzentrationen, die in Tabelle XIV gewählt wurden, mit $^1/_{20}$ n-Glykokoll und $^1/_{30}$ mol. Phosphatlösungen herstellt, auch hier wird die Glykolyse nur durch die Phosphate beschleunigt (Tabelle XV). Die Versuche der Tabellen XIV und XV sind mit denselben Zucker- und Wasserstoffperoxydlösungen gleichzeitig ausgeführt und mit $^1/_{10}$ n-Glykokoll- und $^1/_{15}$ mol. Phosphatlösung derart hergestellt, daß in Tabelle XIV die ganze Lösung von 60 ccm $^1/_{10}$ normal bzw. $^1/_{15}$ mol. und die der Tabelle XV $^1/_{20}$ normal bzw. $^1/_{30}$ mol. sind. Selbst die $^1/_{10}$ n-Glykokollösungen der Tabelle XIV bleiben in ihrer Wirkung weit hinter der der $^1/_{30}$ mol. Phosphatlösungen der Tabelle XV zurück.

Das gleiche Ergebnis zeigt sich, wenn man die Glykokoll- durch Boratlösungen ersetzt. Es möge genügen, zwei Tabellen anzugeben, die entsprechend den Tabellen XIV und XV zusammengestellt, den Vergleich von Borat- und Phosphatwirkung wiedergeben. Auch hier sind die Versuche zu gleicher Zeit ausgeführt

und zeigen, daß auch die Borate nicht imstande sind, die Glykolyse nennenswert zu beschleunigen.

Tabelle XIV.

Vergleich der Glykokoll- und Phosphat-Anionenwirkung. Traubenzucker-Oxydation in $^1/_{10}$ n-Glykokoll- und $^1/_{15}$ mol. Phosphatlösungen.
20 ccm Zucker- + 20 ccm H_2O_2- + 20 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen	Ionen-expon.	Polarisation nach		In 10 ccm bleibende Zuckermenge nach				Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach	
			20 Std.	44 Std.	20 Std.	Glykolyse	44 Std.	Glykolyse		
	ccm	p_H	°C	°C	g	mg	g	mg	20 Std.	44 Std.
0	20 H_2O	7,07	0,46	0,31	0,0794	25	0,0660	38	2,40	4,50
1	19,8 $^3/_{10}$ n-Glykokoll + 0,2 $^3/_{10}$ n-NaOH	7,809	0,40	0,33	0,0748	29	0,0689	35	2,00	3,25
2	19,5 $^3/_{10}$ n-Glykokoll + 0,5 $^3/_{10}$ n-NaOH	8,237	0,35	0,30	0,0705	33	0,0696	34	2,30	4,00
3	19,8 $^3/_{15}$ mol. sek. Ph. + 0,2 $^3/_{15}$ mol. prim. Ph. .	8,171	0,19	0,13	0,0507	53	0,0315	73	6,40	6,60
4	19,5 $^3/_{15}$ mol. sek. Ph. + 0,5 $^3/_{15}$ mol. prim. Ph. .	8,038	0,16	0,12	0,0512	53	0,0310	78	6,20	6,80
5	19,0 $^3/_{15}$ mol. sek. Ph. + 1,0 $^3/_{15}$ mol. prim. Ph. .	7,863	0,18	0,14	0,0504	54	0,0310	73	6,40	6,70

Zu Anfang: Drehung 0,55°; in 10 ccm: 0,104 g Glucose.

Tabelle XV.

Vergleich der Glykokoll- und Phosphat-Anionenwirkung.
Traubenzucker-Oxydation in $^1/_{20}$ n-Glykokoll- und $^1/_{30}$ mol. Phosphatlösungen zum Vergleich mit Tabelle XIV.
20 ccm Zucker- + 20 ccm H_2O_2- + 10 ccm Salzlösung + 10 ccm H_2O.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen	Ionen-expon.	Polarisation nach		In 10 ccm bleibende Zuckermenge nach				Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach	
			20 Std.	44 Std.	20 Std.	Glykolyse	44 Std.	Glykolyse		
	ccm	p_H	°C	°C	g	mg	g	mg	20 Std.	44 Std.
0	10 H_2O	7,07	0,46	0,31	0,0794	25	0,0660	38	2,4	4,5
1	9,9 $^3/_{10}$ n-Glykokoll + 0,1 $^3/_{10}$ n-NaOH . .	7,809	0,45	0,42	0,0788	25	0,0765	28	1,3	1,7
2	9,75 $^3/_{10}$ n-Glykokoll + 0,25 $^3/_{10}$ n-NaOH .	8,237	0,44	0,42	0,0781	26	0,0772	27	1,1	1,8
3	9,9 $^3/_{15}$ mol. sek. + 0,1 $^3/_{15}$ mol. prim. .	8,171	0,22	0,18	0,0580	51	0,0378	66	6,6	6,3
4	9,75 $^3/_{15}$ mol. sek. + 0,25 $^3/_{15}$ mol. prim.	8,038	0,20	0,16	0,0522	52	0,0381	66	5,4	6,4
5	9,5 $^3/_{15}$ mol. sek. + 0,50 $^3/_{15}$ mol. prim.	7,863	0,22	0,17	0,0524	52	0,0375	67	5,8	6,4

Zu Anfang: Drehung: 0,55°; in 10 ccm: 0,104 g Glucose.

Die Anfangsdrehung der Lösungen der Tabellen XVI und XVII war 0,55° (10-cm-Rohr) und 10 ccm enthielten zu Anfang 0,104 g Glucose. Auch hier geben die Aciditäten nicht die wahre Ansäuerung an. Die Boratlösungen sind z. B. infolge der geringen Dissoziation der Borsäure fast neutral, bei der Titration wird aber die gesamte Salzsäure mittitriert und dadurch eine Acidität festgestellt, die der H˙-Ionenkonzentration gar nicht entspricht.

Tabelle XVI.

Vergleich der Borat- und Phosphat-Anionenwirkung.
Traubenzucker-Oxydation: in $^1/_{10}$ n-Borat- und $^1/_{15}$ mol. Phosphatlösungen zum Vergleich mit Tabelle XVII.
20 ccm Zucker- + 20 ccm H_2O_2- + 20 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionenexpon. p_H	Polarisation nach 20 Std. °C	Polarisation nach 44 Std. °C	In 10 ccm bleibende Zuckermenge nach 20 Std. g	Glykolyse mg	44 Std. g	Glykolyse mg	Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	20 H_2O	7,07	0,50	0,44	0,0852	19	0,0793	25	0,8	1,5
1	11,0 $^3/_{10}$ n-Boratlösung + 9,0 $^3/_{10}$ n-HCl . .	7,939	0,45	0,43	0,0853	19	0,0794	25	4,2	5,0
2	10,5 $^3/_{10}$ n-Boratlösung + 9,5 $^3/_{10}$ n-HCl . .	7,621	0,47	0,42	0,0835	21	0,0787	35	4,2	5,1
3	19,0 $^3/_{15}$ mol. sek. + 1,0 $^3/_{15}$ mol. prim.	7,863	0,26	0,18	0,0580	46	0,0400	54	5,6	6,4
4	18,0 $^3/_{15}$ mol. sek. + 2,0 $^3/_{15}$ mol. prim. Ph.	7,648	0,30	0,18	0,0586	45	0,0423	52	5,6	6,6

Tabelle XVII.

Vergleich der Borat- und Phosphat-Anionenwirkung.
Traubenzucker-Oxydation: in $^1/_{20}$ n-Borat- und $^1/_{30}$ mol. Phosphatlösungen zum Vergleich mit Tabelle XVI.
20 ccm Zucker- + 20 ccm H_2O_2- + 10 ccm Salzlösung + 10 H_2O.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionenexpon. p_H	Polarisation nach 20 Std. °C	Polarisation nach 44 Std. °C	In 10 ccm bleibende Zuckermenge nach 20 Std. g	Glykolyse mg	44 Std. g	Glykolyse mg	Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	10 H_2O	7,07	0,50	0,44	0,0852	19	0,0793	25	0,8	1,5
1	5,5 $^3/_{10}$ n-Boratlösung + 4,5 $^3/_{10}$ n-HCl . .	7,939	0,48	0,42	0,0853	19	0,0803	24	3,0	3,5
2	5,25 $^3/_{10}$ Boratlösung + 4,75 $^3/_{10}$ HCl . .	7,621	0,48	0,46	0,0834	21	0,0784	26	3,0	3,0
3	9,5 $^3/_{15}$ mol. sek. + 0,5 $^3/_{15}$ mol. prim. .	7,863	0,32	0,21	0,0683	36	0,0547	49	3,9	4,9
4	9,0 $^3/_{15}$ mol. sek. + 1,0 $^3/_{15}$ mol. prim Ph.	7,648	0,33	0,28	0,0659	38	0,0583	46	3,7	4,6

2. Der Einfluß der Regulatorenmengen auf die Oxydation des Formaldehyds.

Die Versuche, die zur Feststellung des Einflusses der absoluten Regulatorenmengen bei der Formaldehyd-Oxydation ausgeführt wurden, beziehen sich auf den Vergleich der Wirkungen in $^1/_{10}$ und $^1/_{20}$ n-Glykokoll- und Boratlösungen mit den in $^1/_{15}$ und $^1/_{30}$ molekularen Phosphatlösungen; da die Versuche in je 2 entsprechenden Tabellen zu gleicher Zeit und mit denselben Zucker- und Wasserstoffperoxydmengen angesetzt wurden, so lassen sich auch hier wieder die $^1/_{10}$ n-Glykokoll- und Boratversuche mit den $^1/_{30}$ mol. Phosphatversuchen unmittelbar vergleichen.

Tabelle XVIII.

Vergleich der Glykokoll- und Phosphat-Anionenwirkung.
Formaldehyd-Oxydation in $^1/_{20}$ n-Glykokoll- und $^1/_{30}$ mol. Phosphatlösungen.
20 ccm Formaldehyd- + 20 ccm H_2O_2- + 10 ccm Salzlösung + 10 ccm H_2O.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionenexpon. p_H.	In 60 ccm oxydierter Formaldehyd nach 20 Std. g	44 Std. g	Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	10 H_2O	7,07	0,0093	0,0195	0,50	0,90
1	9,9 $^2/_{10}$n-Gl. + 0,1 $^2/_{10}$n-NaOH	7,809	0,0101	0,0164	0,95	1,4
2	9,75 „ + 0,25 „	8,237	0,0058	0,0165	0,85	1,2
3	9,9 $^2/_{15}$mol.sek. + 0,1 $^2/_{15}$mol.pr.	8,171	0,0411	0,0429	2,20	2,5
4	9,75 „ „ + 0,25 „ „	8,038	0,0403	0,0408	2,30	2,4
5	9,50 „ „ + 0,5 „ „	7,863	0,0379	0,0385	2,30	2,75

Tabelle XIX.

Vergleich der Glykokoll- und Phosphat-Anionenwirkung.
Formaldehyd-Oxydation in $^1/_{10}$ n-Glykokoll- und $^1/_{30}$ mol. Phosphatlösungen.
20 ccm Aldehyd- + 20 H_2O_2- + 20 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionenexpon. p_H.	In 60 ccm oxydierter Formaldehyd nach 20 Std. g	44 Std. g	Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	20 H_2O	7,07	0,0130	0,0197	0,5	0,90
1	19,8 $^3/_{10}$n-Gl. + 0,2 $^3/_{10}$n-NaOH	7,809	0,0135	0,0152	1,30	1,80
2	19,5 „ + 0,5 „	8,237	0,0116	0,0175	1,55	1,80
3	19,8 $^2/_{15}$mol.sek. + 0,2 $^2/_{15}$mol.pr.	8,171	0,0432	0,0477	2,6	2,7
4	19,5 „ „ + 0,5 „ „	8,038	0,0521	0,0516	2,7	2,9
5	19,0 „ „ + 1,0 „ „	7,863	0,0469	0,0474	2,75	3,05

In 10 ccm (Tabelle XVIII und XIX) zu Anfang: 0,0745 g Formaldehyd.

Tabelle XX.

Vergleich der Borat- und Phosphat-Anionenwirkung.
Formaldehyd-Oxydation in $^1/_{20}$ n-Borat- und $^1/_{30}$ mol. Phosphatlösungen zum Vergleich mit Tabelle XXI.
20 ccm Aldehyd- + 20 ccm H_2O_2- + 10 ccm Salzlösung + 10 ccm H_2O.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionenexpon. p_H.	In 60 ccm oxydierter Formaldehyd nach 20 Std. g	44 Std. g	Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	10 H_2O	7,07	0,0069	0,0142	0,35	0,80
1	5,5 $^1/_{10}$ n-Boratl. + 4,5 $^1/_{10}$ n-HCl	7,934	0,0157	0,0193	1,6	2,0
2	5,25 „ + 4,75 „	7,621	0,0106	0,0166	1,5	2,3
3	9,5 $^1/_{15}$ mol. sek. + 0,5 $^1/_{15}$ mol. pr.	7,863	0,0283	0,0345	1,7	2,1
4	9,0 „ „ + 1,0 „ „	7,641	0,0281	0,0332	1,75	2,10

Zu Anfang in 60 ccm: 0,0754 g Formaldehyd.

Tabelle XXI.

Vergleich der Borat- und Phosphat-Anionenwirkung.
Formaldehyd-Oxydation in $^1/_{10}$ n-Borat- und $^1/_{15}$ mol. Phosphatlösungen zum Vergleich mit Tabelle XX.
20 ccm Aldehyd- + 20 ccm H_2O_2- + 20 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionenexpon. p_H.	In 60 ccm oxydierter Formaldehyd nach 20 Std. g	44 Std. g	Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	20 H_2O	7,07	0,0069	0,0142	0,35	0,80
1	11,0 $^1/_{10}$ Boratl. + 9,0 $^1/_{10}$ n-HCl	7,939	0,0239	0,0271	2,2	2,75
2	10,5 „ + 9,5 „	7,621	0,0165	0,0203	2,6	2,95
3	19,0 $^1/_{15}$ mol. sek. + 1,0 $^1/_{15}$ mol. pr.	7,863	0,0355	0,0445	2,4	2,7
4	18,0 „ „ + 2,0 „ „	7,648	0,0323	0,0409	2,5	2,75

Zu Anfang in 60 ccm: 0,0754 g Formaldehyd.

Die Ergebnisse der Tabellen XVIII und XIX sind für den Vergleich der Glykokoll- und Phosphatlösungen folgende: Bei den verdünnten Formaldehydlösungen ist die Steigerung der Oxydation mit der Verdoppelung der Phosphatmenge zwar gering, aber erkennbar; bei Anwendung des Glykokolls ist eine Hemmung gegenüber den Versuchen ohne Zusatz zu konstatieren. Bei den Versuchen mit Boratsalzsäure wurden, nachdem sich für die den Glykokollversuchen entsprechenden Verhältnissen eine, wenn auch geringe Steigerung der Glykolyse

durch die absoluten Boratmengen ergeben hatte — für die Phosphate blieben die Verhältnisse dieselben wie in den Tabellen XVIII und XIX — noch zwei Versuchsreihen (Tabellen XXII und XXIII) angesetzt, in denen eine weit konzentriertere Formaldehydlösung zur Verwendung kam. Dabei zeigte

Tabelle XXII.

Formaldehyd-Oxydation in $^{1}/_{20}$ n-Borat- und $^{1}/_{30}$ mol. Phosphatlösungen.
20 ccm Aldehyd + 20 H_2O_2- + 10 ccm Salzlösung + 10 H_2O.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionenexpon. p_H	In 60 ccm oxydierter Formaldehyd nach 20 Std. g	44 Std. g	Acidität für 5 ccm ($^{1}/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	10 H_2O	7,07	0,1133	0,2171	9,5	17,5
1	5,5 $^{3}/_{10}$ Boratl. + 4,5 $^{3}/_{10}$ n-HCl.	7,939	0,1265	0,2054	11,5	15,25
2	5,25 „ + 4,75 „	7,621	0,1229	0,2108	11,0	16,2
3	9,5 $^{3}/_{15}$ mol.sek. + 0,5 $^{3}/_{15}$ mol.pr.	7,863	0,1787	0,2742	12,5	17,4
4	9,0 „ „ + 1,0 „ „	8,648	0,1661	0,2469	12,2	16,5

Tabelle XXIII.

Formaldehyd-Oxydation in $^{1}/_{10}$ n-Borat- und $^{1}/_{15}$ mol. Phosphatlösungen.
20 ccm Aldehyd- + 20 H_2O_2- + 20 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionenexpon. p_H	In 60 ccm oxydierter Formaldehyd nach 20 Std. g	44 Std. g	Acidität für 5 ccm ($^{1}/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	20 H_2O	7,07	0,1133	0,2171	9,5	17,5
1	11,0 $^{3}/_{10}$ n-Boratl. + 9,0 $^{3}/_{10}$ n-HCl	7,939	0,1251	0,2193	11,4	17,6
2	10,5 $^{3}/_{10}$ n-Boratl. + 9,5 $^{3}/_{10}$ n-HCl	7,621	0,1353	0,2190	12,0	18,4
3	19,0 $^{3}/_{15}$ mol.sek. + 1,0 $^{3}/_{15}$ mol.pr.	7,868	0,2078	0,2970	13,5	19,0
4	18,0 „ „ + 2,0 „ „	7,648	0,2307	0,3027	14,2	19,6

sich aber, daß durch diesen Umstand die Oxydationsgeschwindigkeit auch ohne Salzzusatz so erhöht ist, daß ein beschleunigender Einfluß der doppelten Boratmenge überhaupt nicht mehr in Erscheinung tritt; bei den Phosphaten ist, ungeachtet der an sich schon großen Oxydationsgeschwindigkeit, eine wesentliche Steigerung derselben ebenso unverkennbar, wie die Abhängigkeit dieser Steigerung von der absoluten Menge der Phosphate. Alle Tabellen zeigen den großen Unterschied der Phos-

phatwirkung gegenüber dem Einfluß der anderen Salzlösungen, auch in Konzentrationen, die bedeutend kleiner sind als die der Glykokoll- und Boratmischungen, wie der Vergleich der $^1/_{30}$ molekularen Phosphat- mit den $^1/_{10}$ normalen Borat- oder Glykokollversuchen lehrt.

Die beiden Tabellen XXII und XXIII sind die Wiederholung der letzten beiden Tabellen mit einer konzentrierteren Formaldehydlösung, in 60 ccm sind 0,5466 g Formaldehyd enthalten.

3. Der Einfluß der Regulatorenmenge auf die Oxydation des Glykolaldehyds.

Die Versuche sind in der für den Formaldehyd gewählten Anordnung angesetzt, und zwar mit sehr verdünnten Glykolaldehydlösungen, da bei stärkerer Konzentration dieses leicht oxydablen Aldehyds die Einflüsse der Salzzusätze zu sehr in den Hintergrund treten. Aus den folgenden Tabellen ist ersichtlich, daß die Steigerung des Glykokollzusatzes keinen, die des Boratzusatzes nur einen geringen fördernden Einfluß ausübt. Die Phosphatwirkung ist erheblich und auch von der Menge der zugesetzten Salzlösung abhängig.

Tabelle XXIV.

Vergleich der Glykokoll- und Phosphat-Anionenwirkung.
Glykolaldehyd-Oxydation in $^1/_{30}$ n-Glykokoll- und $^1/_{30}$ mol. Phosphatlösung zum Vergleich mit Tabelle XXV.

20 ccm Aldehyd- + 20 ccm H_2O_2- + 10 ccm Salzlösung + 10 ccm H_2O.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen	Ionen-expon.	Cu_2O-Menge mit 10 ccm der Lösg. erhalten nach		Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach	
			20 Std.	44 Std.		
	ccm	p_H	g	g	20 Std.	44 Std.
0	10 H_2O	7,07	0,0356	0,0320	0,55	0,67
1	9,9 $^3/_{10}$-Glykokollösg. + 0,1 $^3/_{10}$ n-NaOH	7,809	0,0349	0,0363	0,68	0,80
2	9,75 Glyk.-Lösg. + 0,25 NaOH	8,237	0,0357	0,0340	0,80	1,20
2	9,9 $^3/_{15}$ mol. sek. + 0,1 mol. prim.	8,171	0,0030	0,0027	2,70	2,75
4	9,75 „ „ + 0,25 „ „	8,038	0,0038	0,0019	2,85	3,15
5	9,5 „ „ + 0,5 „ „	7,863	0,0068	0,0031	2,30	3,10

In 10 ccm zu Anfang 0,0381 g Cu_2O gefällt.

Tabelle XXV.

Vergleich der Glykokoll- und Phosphat-Anionenwirkung.
Glykolaldehyd-Oxydation in $^1/_{10}$ n-Glykokoll- und $^1/_{15}$ mol. Phosphatlösung zum Vergleich mit Tabelle XXIV.
20 ccm Aldehyd- + 20 ccm H_2O_2- + 20 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionen-konz. p_H	Cu_2O-Menge mit 10 ccm der Lösg. erhalten nach 20 Std. g	44 Std. g	Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	20 H_2O	7,07	0,0356	0,0320	0,55	0,67
1	19,8 $^1/_{10}$-Glykokollösg. + 0,2 $^1/_{10}$ n-NaOH	7,809	0,0360	0,0341	1,05	2,0
2	19,5 Glyk.-Lösg. + 0,5 n-NaOH	8,237	0,0379	0,0351	1,00	2,10
3	19,8 $^1/_{15}$ mol. sek. + 0,2 $^1/_{15}$ mol. pr.	8,171	0,0008	0,0008	3,60	3,60
4	19,5 „ „ + 0,5 „ „	8,038	0,0010	0,0005	3,40	3,70
5	19,0 „ „ + 1,0 „ „	7,863	0,0060	0,0020	3,70	3,90

In 10 ccm zu Anfang 0,0381 g Cu_2O gefällt.

Tabelle XXVI.

Vergleich der Borat- und Phosphat-Anionenwirkung.
Glykolaldehyd-Oxydation in $^1/_{20}$ n-Borat- und $^1/_{30}$ mol. Phosphatlösungen zum Vergleich mit Tabelle XXVII.
10 ccm Aldehyd- + 20 ccm H_2O_2- + 10 ccm Salzlösung + 20 ccm H_2O.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionen-expon. p_H	Cu_2O-Menge mit 10 ccm der Lösg. erhalten nach 20 Std. g	44 Std. g
0	10 H_2O	7,07	0,0279	0,0236
1	5,5 $^1/_{10}$ n-Boratlösg. + 4,5 $^1/_{10}$ n-HCl	7,939	0,0310	0,0251
2	5,25 „ + 4,75 „	7,621	0,0298	0,0269
3	9,5 $^1/_{15}$ mol. sek. + 0,5 $^1/_{15}$ mol. prim.	7,863	0,0187	0,0123
4	9,0 „ „ + 1,0 „ „	7,642	0,0203	0,0145

10 ccm der Lösung gaben unmittelbar nach dem Ansetzen 0,0337 g Cu_2O.

D. Der Einfluß der verschiedenen Wasserstoffionen-konzentrationen bei den Phosphaten.

1. Traubenzucker.

Wie aus den mitgeteilten Versuchen schon hervorgeht, ist für die durch die Phosphate beschleunigte Oxydation der Wasserstoffionenexponent von Einfluß. Es wurde dieser Umstand bis jetzt nicht besonders hervorgehoben, weil das Wesentliche, die Sonderstellung der Phosphate gegenüber dem Glyko-

Tabelle XXVII.

Vergleich der Borat- und Phosphat Anionenwirkung.
Glykolaldehyd-Oxydation in $^1/_{10}$ n-Borat- und $^1/_{15}$ mol. Phosphatlösungen zum Vergleich mit Tabelle XXVI.
10 ccm Aldehyd- + 20 ccm H_2O_2- + 20 ccm Salzlösung + 10 ccm H_2O.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen	Ionen-expon.	Cu_2O-Menge mit 10 ccm der Lösg. erhalten nach	
			20 Std.	44 Std.
	ccm	p_H	g	g
0	20 H_2O	7,07	0,0279	0,0236
1	11,0 $^2/_{10}$ n-Boratlösg. + 9,0 $^2/_{10}$ n-HCl	7,939	0,0281	0,0253
2	10,5 „ + 9,5 „	7,621	0,0276	0,0226
3	19,0 $^2/_{15}$ mol. sek. + 1,0 $^2/_{15}$ mol. prim.	7,863	0,0122	0,0065
4	18,0 „ „ + 2,0 „ „	6,642	0,0149	0,0079

Der Glykolaldehydgehalt war der der vorhergehenden Tabelle.

koll und dem Borat, auch ohne Berücksichtigung dieses Punktes deutlich hervortritt. Da nur die Phosphate die Glykolyse beschleunigen, so kommt auch für die Berücksichtigung des Einflusses der Wasserstoffionenkonzentration nur das Phosphatgemisch in Betracht. Die folgende Tabelle XXVIII und auch die Tabellen X und XI zeigen, daß bei den Konzentrationen, die der Blutalkalität mit p_H gleich 7,4 bis 7,5 sehr nahe kommen, die Glykolyse auch am größten ist. Da diese Versuche immer im Hinblick auf die natürliche Glykolyse unternommen sind, so wurden Gemische mit weit über die Blutalkalität wachsen-

Tabelle XXVIII.

Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration.
Traubenzucker-Oxydation mit $^1/_3$ mol. Phosphatlösungen.
25 ccm Zucker- + 25 ccm H_2O_2- + 10 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen	Ionen-expon.	Polarisation nach		In 10 ccm vorhandene Zuckermenge nach				Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach	
			20 Std.	44 Std.	20 Std.	Glykolyse	44 Std.	Glykolyse		
	ccm	p_H	°C	°C	g	mg	g	mg	20 Std.	44 Std.
0	10 H_2O	7,07	0,56	0,51	0,1137	16,5	0,0926	38	0,45	1,00
1	8 sek. + 2 prim. Phosph.	7,847	0,40	0,30	0,0784	52	0,0657	65	2,4	3,4
2	7 „ + 3 „ „	7,146	0,34	0,27	0,0713	59	0,0591	71	3,3	4,3
3	5 „ + 5 „ „	6,813	0,45	0,37	0,0812	49	0,0718	58,5	3,0	3,8
4	4 „ + 6 „ „	6,643	0,45	0,38	0,0810	49	0,0710	59	3,0	4,1
5	2 „ + 8 „ „	6,239	0,46	0,43	0,0874	43	0,0770	53	3,1	4,2
6	1 „ + 9 „ „	5,910	0,51	0,45	0,0945	36	0,0848	45	3,2	4,3

Zu Anfang: Drehung 0,69°; in 10 ccm 0,130 g Glucose.

den OH'-Konzentrationen nicht angesetzt. Mit der Abnahme der Alkalität nimmt auch die Glykolyse ab, sie ist aber z. B. in Tabelle XXVIII bei einem Exponent $p_{H^\cdot} = 5{,}9$ noch bedeutend stärker als die ohne Gegenwart der Phosphate erzielbare, wenigstens in den ersten 20 Stunden; dann tritt durch die starke Säurebildung Hemmung ein. Der angegebene Säuretiter der Reaktionslösungen ist kein genaues Maß für die Größe der Glykolyse, da er die ungleichen Anfangsaciditäten der verschiedenen Lösungen mit umschließt.

2. Formaldehyd.

Auch der Formaldehyd steht in bezug auf die von den Phosphaten beeinflußte Oxydationsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration. Ebenso ist hier die Oxydation in der Nähe der Blutalkalität bedeutend. Wie groß der Einfluß der Phosphate ist, zeigt der Vergleich der Nulllösung und der Lösung Nr. 2 in Tabelle XXIX, die beide nahe dieselbe Ionenkonzentration haben. Selbst bei $p_{H^\cdot} = 6{,}239$ ist die Phosphatglykolyse noch größer als die in Wasser. Der katalytische Einfluß der Phosphate ist also ausschlaggebend, vorausgesetzt, daß genügend Hydroxylionen vorhanden sind, die der katalytischen Beeinflussung unterliegen.

Tabelle XXIX.

Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration.
Formaldehyd-Oxydation mit $^1/_3$ mol. Phosphaten.
25 ccm Aldehyd- + 25 ccm H_2O_2- + 10 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionen-expon. $p_{H^\cdot}$	In 60 ccm oxydierter Formaldehyd nach 20 Std. g	44 Std. g	Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	10 H_2O	7,07	0,0070	0,0160	0,15	0,23
1	8 sek. + 2 prim. Phosph.	7,347	0,0240	0,0290	0,95	1,10
2	7 „ + 3 „ „	7,146	0,0235	0,0269	1,05	1,25
3	5 „ + 5 „ „	6,813	0,0243	0,0250	1,40	1,65
4	4 „ + 6 „ „	6,643	0,0170	0,0210	1,75	1,90
5	2 „ + 8 „ „	6,239	0,0096	0,0170	2,20	2,30
6	1 „ + 9 „ „	5,910	0,0083	0,0090	2,50	2,60

3. Glykolaldehyd.

Die günstigste Ionenkonzentration für die Glykolaldehyd-Oxydation unter Einfluß der Phosphate liegt innerhalb des

untersuchten Bereiches etwa bei $p_{H^{\cdot}} = 6,6$ bis 7,15, wie Tabelle XXX zeigt. Die Versuche sind hier 68 Stunden lang durchgeführt. Die zu drei Zeiten entnommenen Proben gaben stets die gleiche Ordnung der oxydierten Glykolaldehydmengen in bezug auf die Ionenkonzentration.

Tabelle XXX.

Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration.
Glykolaldehyd-Oxydation mit $^1/_3$ mol. Phosphatlösungen.
25 ccm Aldehyd- + 25 ccm H_2O_2- + 10 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionenexpon. $p_{H^{\cdot}}$	Cu_2O-Menge mit 10 ccm der Lösg. erhalten nach 20 Std. g	44 Std. g	68 Std. g	Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.	68 Std.
0	10 H_2O	7,07	0,0270	0,0243	0,0234	0,15	0,28	0,48
1	8 sek. + 2 prim. Phosph.	7,347	0,0169	0,0128	0,0120	1,10	1,20	0,90
2	7 „ + 3 „ „	7,146	0,0152	0,0140	0,0102	1,45	1,40	1,30
3	5 „ + 5 „ „	6,813	0,0160	0,0119	0,0092	1,90	1,90	1,60
4	4 „ + 6 „ „	6,643	0,0186	0,0144	0,0128	2,20	2,20	2,00
5	2 „ + 8 „ „	6,293	0,0193	0,0187	0,0155	2,70	2,80	2,80
6	1 „ + 9 „ „	5,910	0,0216	0,0215	0,0217	2,80	3,00	3,05

Tabelle XXXI.

Glykolaldehyd-Oxydation mit $^1/_3$ mol. Phosphatlösung.
25 ccm Aldehyd- + 25 ccm H_2O_2- + 10 ccm Salzlösung.

Nummer	Zugesetzte Salzlösungen ccm	Ionenexpon. $p_{H^{\cdot}}$	Cu_2O-Menge mit 10 ccm der Lösg. erhalten nach 20 Std. g	44 Std. g	Acidität für 5 ccm ($^1/_{10}$ n-NaOH) nach 20 Std.	44 Std.
0	10 H_2O	7,07	0,0285	0,0259	0,17	0,50
1	8 sek. + 2 prim. Phosph.	7,347	0,0153	0,0099	1,35	1,20
2	7 „ + 3 „ „	7,146	0,0166	0,0085	1,6	1,35
3	5 „ + 5 „ „	6,813	0,0186	0,0090	2,1	1,75
4	4 „ + 6 „ „	6,643	0,0170	0,0083	2,3	2,05
5	2 „ + 8 „ „	6,239	0,0195	0,0176	2,65	2,95
6	1 „ + 9 „ „	5,910	0,0238	0,0198	2,85	3,20

E. Die Untersuchung der Oxydationsprodukte.

1. Die Oxydationsprodukte des Traubenzuckers.

Um über die Natur der bei der Phosphatglykolyse entstehenden Oxydationsprodukte Aufschluß zu erhalten, mußten die Versuche in größerem Maßstab durchgeführt werden. Die

im folgenden beschriebene Untersuchung ist mehrere Male wiederholt worden, um die Ausbeute der in kleinen Mengen entstehenden Produkte zu verbessern.

20 g Traubenzucker wurden in 400 g Wasser gelöst und nach Zusatz von 20 g Perhydrol (30%ig) mit 450 ccm $^1/_8$ mol. sekundärem Natriumphosphat versetzt. Nach 4 bis 5 tägigem Stehen im Brutschrank bei 37° war die Lösung schwach gelb gefärbt, sauer und das Wasserstoffperoxyd verschwunden; die Ablenkung des polarisierten Lichtes war im 1-dcm-Rohr von 1,26° auf 0,3 bis 0,4° durchschnittlich zurückgegangen. Nach 5 tägiger Versuchsdauer wurde die stark saure Lösung mit kohlensaurem Kalk neutralisiert, nachdem an einer Probe das Fehlen von Oxalsäure festgestellt war. Von der neutralen Lösung diente ein Destillat von etwa 150 ccm zur Prüfung auf flüchtige Bestandteile. Dabei zeigte sich, daß, wenn der Versuch vor dem völligen Verbrauch des Wasserstoffperoxyds abgebrochen wurde, das Destillat geringe Mengen Formaldehyd enthielt, der durch die bekannten qualitativen Reaktionen nachgewiesen werden konnte. In Versuchen, die bis zum Verbrauch des Peroxyds durchgeführt waren, fielen die Formaldehydproben negativ aus, jedoch enthielt das Destillat geringe Mengen einer jodoformbildenden Substanz, deren Natur nicht ermittelt werden konnte. Eine deutliche Osazonbildung, die auf Acetol, Methylketol oder Methylglyoxal hinweisen würde, trat nicht ein.

Die zurückbleibende Flüssigkeit wurde dann mit 180 ccm 10%iger Schwefelsäure, die ausreicht, um die gesamte Phosphorsäure in Freiheit zu setzen, angesäuert und mit Wasserdampf destilliert, bis die übergehende Flüssigkeit nicht mehr sauer reagierte. Als flüchtige Säure wurde nur Ameisensäure ermittelt, und zwar enthielt das Gesamtdestillat 2 bis 2,5 g in verschiedenen Versuchen. Die quantitative Bestimmung erfolgte durch die Darstellung des Bariumformiats. Neben der Ameisensäure entsteht noch als flüchtige Säure in sehr erheblichen Mengen Kohlensäure, und zwar etwa 5 g aus 20 g Traubenzucker. Zu ihrer Bestimmung wurden während der Dauer des Reaktionsverlaufs die entweichenden Gase, neben der Kohlensäure noch Sauerstoff durch Zersetzung des Wasserstoffperoxyds, durch konzentrierte Kalilauge geleitet. Nach Ablauf des Versuchs wurde ein bestimmter Teil der Kalilauge mit

1 n-Salzsäure auf die gesamte Alkalimenge titriert; ein anderer aliquoter Teil, mit Chlorbarium versetzt, gab durch vorsichtige Titration mit Oxalsäure die Menge des freien Alkalis und damit auch die des an Kohlensäure gebundenen.

In dem Rückstand der Dampfdestillation befanden sich außer Zucker die nicht flüchtigen Oxysäuren. Zu ihrer Gewinnung wurde die Reaktionsflüssigkeit mit wenig Schwefelsäure angesäuert, bei 50 bis 60° im Vakuum auf ein kleines Volumen eingeengt, wobei die Ameisensäure abdestilliert, dann der zurückbleibende Sirup mit Natronlauge genau neutralisiert und im Vakuum bei etwa 60° nahezu zur Trockne gebracht. Das Behandeln der noch feuchten Masse mit Alkohol auf dem Wasserbade machte sie hart und brüchig, so daß sie unter Alkohol fein gepulvert werden konnte. Durch erschöpfende Extraktion mit siedendem Alkohol ließen sich Zucker und die Alkalisalze der Oxysäuren in Lösung bringen. Zur Trennung von Zucker und Oxysäuren diente die Unlöslichkeit der Calciumsalze der Oxysäuren in Alkohol. Zu ihrer Darstellung wurden die alkoholischen Filtrate zur Trockne gebracht, die Rückstände in Wasser gelöst, die gelbe Lösung mit Tierkohle entfärbt, das klare Filtrat mit Schwefelsäure angesäuert, dann mit kohlensaurem Kalk neutralisiert und abermals filtriert. In dieser Lösung waren neben Zucker die Calciumsalze der Oxysäuren und Natriumsulfat enthalten. Da beim Eindampfen eine Umsetzung der beiden Salze unter Bildung der alkohollöslichen Natriumsalze der Oxysäuren wieder eintrat, so mußte das Filtrat bei gewöhnlicher Temperatur im Vakuum eingeengt werden; der zurückbleibende klare Sirup wurde beim Anreiben mit kaltem absolutem Alkohol und folgender Erwärmung mit neuen Portionen Alkohols hart, ließ sich pulverisieren und gab nun an siedenden Alkohol den Zucker vollständig ab; trotz dieser Vorsichtsmaßregel gingen aber stets geringe Mengen von Natriumsalzen in den Alkohol über.

Diese alkoholischen Zuckerextrakte hinterließen bei den gewählten Mengenverhältnissen im Ansatz 10 bis 15 g dicken Sirup, der noch viel Traubenzucker, daneben aber auch relativ bedeutende Mengen Pentose enthielt. Zu ihrem Nachweis wurde der in Wasser gelöste Zuckersirup vollständig vergoren, in dem Filtrat des Gärguts das in Lösung gegangene Eiweiß mit

kolloidaler Eisenoxydlösung gefällt und das Filtrat qualitativ und quantitativ auf Pentose geprüft. Als erstere wurde die Bialsche Reaktion gewählt, die die bekannte blaugrüne Färbung in ausgeprägtem Maße hervorrief. Die quantitative Bestimmung nach Tollens ergab schwankende Mengen der Phloroglucinverbindung, bei besonders sorgfältigem Ausschluß von Oxysäuren 0,15 bis 0,135 g. Phenylhydrazin lieferte ein in heißem Wasser leicht lösliches Osazon, das aus Wasser umkrystallisiert in feinen haarförmig gewundenen Krystallen erhalten wurde. Der Schmelzpunkt des mehrfach krystallisierten Produkts lag schließlich konstant bei 162 bis 163^{0}, der Zersetzungspunkt bei 175^{0}; leider reichten trotz der Verarbeitung einer ganzen Reihe von Versuchen auf Pentose die nach den mehrfachen Krystallisationen erhaltenen Mengen nicht zur Analyse aus. Es wurde bei diesen Untersuchungen eine Farbenreaktion gefunden, die zur Unterscheidung des Glucosazons von Pentosazon dienen kann; kocht man eine geringe Menge des ersteren mit konzentrierter Salzsäure bis die Lösung farblos geworden und setzt dann einige Tropfen in Salzsäure gelöstes Phloroglucin hinzu so tritt eine tiefgrüne Färbung auf, während ein Pentosazon nach derselben Behandlung nur eine schwach rötliche Farbe gibt, die auch das aus der Traubenzuckeroxydation erhaltene Pentosazon zeigte.

In den Rückständen der alkoholischen Zuckerextrakte waren noch die Calciumsalze der Oxysäuren, wie die Untersuchung ergab, in sehr geringen Mengen. Zur Trennung von dem beigemischten Natriumsulfat wurde die wässerige Lösung der Rückstände mit Salzsäure vorsichtig eingeengt und dann im Vakuum bis zur vollständigen Trockne gebracht, wobei eine dunkel gefärbte Masse zurückbleibt. Dieser trockene Rückstand gab an absoluten Alkohol die freien Oxysäuren ab. Die alkoholischen Filtrate hinterließen beim Eindampfen nur wenig Substanz, die in Wasser gelöst, mit $CaCO_3$ neutralisiert und mit Tierkohle entfärbt wurde. Die auf ein kleines Volumen eingedampfte Lösung gab, in eine große Menge absoluten Alkohols eingetropft, im Maximum nur 0,32 g eines Ca-Salzes. Dasselbe enthielt immer noch Spuren Kochsalz; durch nochmaliges Eindampfen mit Salzsäure und folgender Wiederholung der Prozedur gelang es, letzteres nahezu zu entfernen und ein

reines, weißes Kalksalz zu gewinnen, dessen Ca-Gehalt 14,3 % betrug. Nach den Erfahrungen von Nef, Löb und anderen ist es wahrscheinlich, daß Gemische von Oxysäuren entstehen, worauf auch der Ca-Gehalt hinweist.

2. Die Oxydation des Formaldehyds.

20 g Formaldehyd wurden in den beim Traubenzucker angegebenen Mengen- und Zeitverhältnissen der Oxydation unterworfen. Es entstehen dabei nur Ameisensäure und in geringer Menge Kohlensäure. So wurden bei einer Oxydation von 20 g Formaldehyd 1,53 g CO_2 gefunden. In direktem Sonnenlicht verläuft die Einwirkung des Wasserstoffsuperoxyds weit schneller, in 3 bis 4 Stunden ist die Oxydation beendet, d. h. das Peroxyd verbraucht, während im dunkeln Brutschrank ebensoviel Tage nötig sind. Bei einer Außentemperatur von 43° in direktem Sonnenlicht erwärmt sich die Lösung auf 65°.

3. Die Oxydation des Glykolaldehyds.

Auch der leicht zersetzliche Glykolaldehyd lieferte im wesentlichen nur Ameisensäure, daneben etwas Kohlensäure. Das neutrale Destillat zeigt Formaldehydreaktionen und gab mit alkalischer Jodlösung Jodoform, jedoch ließ sich, auch nicht mit Phenylhydrazin, keine einheitliche Substanz aus dem Destillat isolieren. Es scheint, daß der Glykolaldehyd durch den Oxydationsvorgang zunächst hauptsächlich in Formaldehyd gespalten wird, der dann zu Ameisensäure und Kohlensäure oxydiert wird.

Zusammenfassung.

1. Die Oxydation von Glucose, Formaldehyd und Glykolaldehyd wird durch Phosphate beschleunigt; es handelt sich dabei um eine Katalyse der Hydroxylionenwirkung durch die Phosphorsäureanionen, die nicht ersetzbar sind durch Glykokoll- oder Borsäureanionen, auch wenn sie in Lösungen angewandt werden, die dieselben oder größere Hydroxylionenkonzentrationen herstellen als die Phosphatlösungen.

2. Die beschleunigende Wirkung der Phosphate wächst innerhalb der untersuchten Grenzen mit der Menge der zugesetzten Phosphate; der Wasserstoffionenexponent $p_{H^{\cdot}} = 7{,}4$ bis 7,5,

der der Blutalkalescenz nahe kommt, ist für die Phosphatglykolyse besonders geeignet.

3. Glykokoll übt in geringer Menge eine direkte Hemmung der Oxydation durch Wasserstoffperoxyd aus, eine Erscheinung, die das borsaure Salz nicht zeigt.

4. Bei der oxydativen Phosphatglykolyse des Traubenzuckers bei Blutalkalescenz entstehen neben Oxysäuren, Ameisensäure und Kohlensäure durch Spaltung Pentose und Formaldehyd.

5. Formaldehyd und Glykolaldehyd verhalten sich bei der Wasserstoffperoxydoxydation gegenüber Phosphaten, Boraten und Glykokoll im wesentlichen wie der Traubenzucker.

Beiträge zur Chemie der proteolytischen Fermente.

Von

E. Herzfeld.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Medizinischen Universitätsklinik Zürich.)

(Eingegangen am 12. November 1914.)

Mit 1 Figur im Text.

Als das wichtigste Ziel der neueren katalytischen Forschung kann das Studium der fermentativen Vorgänge bezeichnet werden. Die Definition der Katalysatoren und ihre Beziehung zu den Fermenten ist besonders aus der geschichtlichen Entwicklung ersichtlich.

Die erste Entdeckung in dieser Richtung hat im ersten Drittel des 19. Jahrhunderts der Apotheker Kirchhoff in St. Petersburg gemacht. Er fand, daß Stärke durch Kochen mit verdünnten Säuren, ohne Verbrauch derselben, zunächst in Dextrin, dann schließlich in Zucker umgewandelt wird. Dieser Beobachtung folgte die Entdeckung des französischen Chemikers Thénard[1]), daß das von ihm zuerst dargestellte Wasserstoffsuperoxyd in wässeriger Lösung durch Zugabe der geringsten Mengen von Platinschwamm, Braunstein oder Blutfibrin spontan Sauerstoff abgibt, ohne daß diese Substanzen die geringste Veränderung erfahren hätten. Der Chemiker von Jena, Döbereiner, fand, daß Wasserstoffgas bei Berührung mit Platinschwamm sich fast momentan entzündet. Mitscherlich machte die interessante Beobachtung, daß man mit einer bestimmten Menge konzentrierter Schwefelsäure unbeschränkte Mengen von Alkohol in Äther überführen könne. Er bezeichnete solche Substanzen, die einfach durch ihre Anwesenheit Reaktionen bewirken können als Kontaktsubstanzen. Der schwedische Chemiker Berzelius führte dann den Namen Katalyse für eine Anzahl chemischer Vorgänge ein, die zu ihrem Ablauf der Gegenwart gewisser Stoffe bedürfen, die selbst scheinbar nicht verbraucht oder verändert werden. Er wollte hiermit eine Anzahl, in ihrem Verlauf unerklärte chemische Prozesse, wie die Ätherbildung, Umwandlung der Stärke durch Säuren in Dextrin und Zucker, den Zerfall von Wasserstoffsuperoxyd durch Platin, einheitlich zusammenfassen.

---

[1]) Mém. de l'Acad. des Sc. **3**, 385, 1818.

Bereits Berzelius hat eine auffallende Analogie erkannt, die z. B. zwischen Kontaktwirkungen und der Wirkung des Platins auf Wasserstoffsuperoxyd oder Knallgas in der organischen Chemie und einigen Fermentwirkungen in der organischen und organisierten Welt besteht. Liebig[1]) hingegen ging in seinen Erklärungsversuchen viel weiter und führte die Katalyse auf die Übertragung des Zersetzungsvorganges eines Stoffes auf andere Stoffe, die damit in Berührung sind, zurück.

Erst nach den Versuchen von Wilhelmy (1850), Harcourt und Esson (1860), Berthelot (1862), Guldberg und Waage (1867), van't Hoff[2]), Ostwald[3]) und Arrhenius als die Zeit als wesentlicher Faktor zur Messung chemischer Vorgänge eingeführt wurde, konnte Ostwald[4]) folgende experimentelle Definition der Katalyse aufstellen: „Katalyse ist die Beschleunigung eines langsam verlaufenden chemischen Vorganges durch die Gegenwart eines fremden Stoffes". Hierbei fallen zwei Charakteristika auf. Erstens ist die Menge des Katalysators im Verhältnis zur Menge der von ihm umgewandelten Stoffe zumeist verschwindend klein, so daß schon aus diesem Grunde an eine stöchiometrische chemische Umsetzung des Katalysators mit dem katalysierten Stoffe nicht ohne weiteres gedacht werden kann, obwohl die Größe der Beschleunigung meistens deutlich und oft in bereits bekannter Weise von der Menge des Katalysators abhängt. Der Katalysator beteiligt sich zweitens nicht selbst an der Reaktion und ist also oft nach der Reaktion anscheinend unverändert.

Viele Probleme der Katalyse sind heute noch ungelöst. Besonders ist dies bemerkbar beim Studium der fermentativen Prozesse, wobei man, besonders gegenwärtig, bestrebt ist, die organischen Vorgänge auf die häufig durchsichtigeren anorganischen zurückzuführen. Es sind auch schon bisher eine Reihe von Reaktionen bekannt geworden, die ebenso durch geformte und ungeformte organische Fermente, wie durch die Kontaktwirkung fein verteilter Metalle, Oxyde und anderer poröser und spezifischer Körper katalysiert werden. Eine der neueren, zusammenfassenden Darstellungen des Standes der Probleme von der Katalyse ist von Abel[5]) erschienen.

Nach Pasteur wird die Oxydation von Alkohol zu Essigsäure mit Luftsauerstoff durch das organisierte Ferment Mycoderma aceti, aber nach Davy auch durch fein verteiltes Platin beschleunigt.

Die bekannte katalytische Wirkung, die metallisches Platin und andere anorganische Kontaktsubstanzen auf das Knallgas (Döbereiner) ausüben, soll nach Saussure auch verwesenden, also fermenthaltigen Materien zukommen.

---

[1]) Liebigs Annal. **30**, 241; **153**, 137.

[2]) Études de dynamique chimique 1884.

[3]) Journ. f. prakt. Chem. **27**, 1; **28**, 449; **30**, 93, 1893.

[4]) Zeitschr. f. physik. Chem. **2**, 139; **15**, 706; **19**, 160; **29**, 190.

[5]) Zeitschr. El. Chem. **11**, 1913.

Nach Deville und Debray[1]) sowie nach Hoppe-Seyler[2]) wird der Zerfall von Ameisensäure in CO_2 und Wasserstoff nicht nur durch gewisse Bakterien, sondern auch in derselben Weise durch fein verteiltes Iridium, Rhodium oder Ruthenium veranlaßt. Mit der Katalyse der Ameisensäure beschäftigten sich neuerdings auch Bredig und Blackadden[3]).

Nach Schönbein[4]) wird die Bleichreaktion zwischen H_2O_2 und Indigoschwefelsäure durch Eisenvitriol oder Platinmohr ebenso beschleunigt, wie durch rote Blutkörperchen.

Nach Sulö[5]) werden verdünnte Oxalsäurelösungen in Gegenwart pulveriger oder schwammiger Metalle, wie Palladium, Platin, Silber usw., ebenso zersetzt wie nach Jorissen[6]) in Gegenwart von Schimmelpilzen.

Auch diastatische Erscheinungen, wie die hydrolytische Rohrzuckerinversion, werden nach Rayman und Sulö[7]) von fein verteilten Metallen bewirkt. Nach Schönbein[8]) wirken alle organischen Fermente und rote Blutkörperchen ebenso wie Platinmohr, fein verteiltes Gold, Silber und andere Metalle in Gegenwart von Wasserstoffoxyd bläuend auf Guajaktinktur.

Die Zersetzung von H_2O_2 in Wasser und Sauerstoffgas wird sowohl durch Platin, Gold, Silber, Iridium usw. wie durch Blutfaserstoff heftig katalysiert, ebenso aber auch nach Schönbein[9]) durch alle organischen Fermente.

Die Untersuchungen Seuters[10]) über Blutkatalase, von Issajeff[11]) über Hefekatalase, von Euler[12]) über Pilzkatalase und andere Untersuchungen führten zu der Ansicht, daß die fermentative H_2O_2-Zersetzung normalerweise eine Reaktion erster Ordnung sei.

Bredig[13]) fand auch bei den Vergiftungserscheinungen der Katalyse von Wasserstoffsuperoxyd auffallende Analogien zwischen den Enzymen, dem Blute und dem kolloidalen Platin. Er faßt die katalytisch aktiven Sole der Metalle und Superoxyde als einfache Modelle der Enzymwirkungen auf.

Bredig fand mit Fajans[14]) eine neue Beziehung zwischen ge-

---

1) Compt. rend. 78, 1782, 1874.
2) Zeitschr. f. physiol. Chem. 5, 395; 11, 666.
3) Zeitschr. f. physik. Chem. 48, 1912.
4) Journ. f. prakt. Chem. [1], 75, 79; 78, 90.
5) Zeitschr. f. physik. Chem. 28, 719.
6) Chem. Centralbl. 2, 1084, 1898.
7) Zeitschr. f. physik. Chem. 21, 481; 28, 719.
8) Journ. f. prakt. Chem. [1], 89, 32.
9) Journ. f. prakt. Chem. [1], 89, 24.
10) Zeitschr. f. physiol. Chem. 44, 51, 1905.
11) Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 44, 1904—1905.
12) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 1, 1906.
13) Zeitschr. f. physik. Chem. 37, H. 1, 1901.
14) Ber. 1908, H. 4, S. 752.

wöhnlichen Katalysatoren einerseits und geformten Fermenten und Enzymen andererseits. Fermente wirken auf strukturchemisch identische, aber stereochemisch verschiedene Substrate verschieden ein, und diese stereochemische Spezifität der Enzymwirkung ist häufig als wesentlicher Unterschied zwischen Enzym und Katalysator aufgefaßt worden. Obigen Forschern ist es gelungen, bei dem Zerfall der optisch-aktiven Camphocarbonsäure im Campher und Kohlensäure den Nachweis zu führen, daß eine Base (Nikotin), die den Vorgang katalytisch beschleunigt, die d- und l-Form mit verschiedener Geschwindigkeit zersetzt.

Bredig und Fiske[1]) konnten auch das Emulsin bei der Synthese des Cyanhidrins durch chemisch wohl definierte Substanzen ersetzen. Sie nahmen als Kontaktsubstanz Chinin bzw. Chinidin und erhielten im ersteren Falle das rechtsdrehende Cyanhydrin, im letzteren das linksdrehende als Reaktionsprodukt. Dies ist ein typisches Beispiel für die Analogie zwischen Fermentwirkungen und Katalysatoren.

Rosenthaler[2]) hat die Bildung von d-Benzaldehydcyanhydrin unter dem Einfluß von Emulsin als Beitrag zur asymmetrischen Synthese untersucht.

C. S. Hudson[3]) hat die Inversion des Rohrzuckers durch Invertin eingehend studiert. Die Inversion scheint etwas anderen Gesetzen zu folgen bei der Invertinwirkung als durch Säuren.

Acree[4]) schließt sich der besonders von Bredig vertretenen Theorie an, daß sich das Enzym mit dem Substrat unter Bildung eines Zwischenkörpers vereinigt. Es wird für wahrscheinlich erachtet, daß die Enzyme die Gruppe CONH enthalten, d. h. die Enzyme sind Verbindungen von amphoterem Charakter. Da die Hydroxylgruppen der Zucker und Ester jedenfalls auch basische und saure Eigenschaften besitzen, so sind die Bedingungen für Bildung von Zwischenkörpern gegeben.

Solche Zwischenprodukte finden sich auch bei der Esterbildung. H. Goldschmidt hatte für die Esterbildung in absolut-alkoholischer Lösung die Theorie der Komplexbildung zwischen der katalysierenden Säure und dem Alkohol aufgestellt; durch geringe Wasserzusätze wird dieser Komplex hydrolytisch gespalten.

Daß Fermente neben ihrer abbauenden Wirkung auch Synthesen herbeiführen können, wurde von Croft Hill bewiesen, dem die Synthese eines Disaccharides aus Glucose durch Einwirkung von Maltase gelang. Kastle und Loevenhardt zeigten, daß Pankreaslipase die Bildung von Äthylbutyrat aus Buttersäure und Äthylalkohol bewirkt.

Euler und Beth af Ugglas[5]) untersuchten den Einfluß der Temperatur auf die Inversion des Rohrzuckers durch Invertase, wobei besonders die Inaktivierung des Enzyms durch erhöhte Temperatur berück-

---

[1]) Diese Zeitschr. **46**, 7, 1912.

[2]) Diese Zeitschr. **14**, 1908.

[3]) Journ. of the Amer. Chem. Soc. **30**, 1908.

[4]) Journ. of the Amer. Chem. Soc. **30**, 1908.

[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **65**, 124; **70**, 279.

sichtigt wird. Von besonders großer Bedeutung sind die Versuche von Euler und Bolin[1]), die gefunden haben, daß die Laccase im wesentlichen aus den Calciumsalzen von aliphatischen Oxysäuren besteht. Sie fanden Glykolsäure, Citronensäure, Äpfelsäure und Mesoxalsäure, denen also fermentative Wirkungen zukommen.

Euler und Cramer[2]) fanden, daß bei Vorbehandlung von Hefe oder wachsender Hefezellen mit Glucose Invertasebildung erzeugt wurde. Eine Fermenthemmung konnte nicht konstatiert werden, selbst wenn der zur Vorbehandlung verwandten Lösung kein Stickstoffmaterial zugesetzt wird, sogar auch hier tritt noch eine Invertasebildung ein.

Daß bei den Hydrolysen die Anwesenheit von kolloidalen Körpern von großer Wichtigkeit ist, hat Fagiuoli[3]) nachgewiesen. Er fand, daß der kolloidale Schwefel auf die Leberautolyse eine beschleunigende Wirkung ausübt, und zwar stieg bei steigendem Zusatz diese Wirkung, nahm aber bei Zusatz von mehr als 10 mg auf 20 g Leberbrei wieder ab.

Ohta[4]) stellte ein äußerst aktives Emulsin dar, das eiweißfrei war und weder die Biuretreaktion noch die Ninhydrinreaktion gab. Die Wirkung auf Amygdalin war sehr kräftig, auch Salicin wurde zerlegt. Neuerdings soll es auch gelungen sein, wirksame Invertasepräparate herzustellen, die keine Spur von Eiweiß bzw. Eiweißderivaten enthielten, dadurch scheint die Lehre von der eiweißähnlichen Beschaffenheit der Fermente in Frage gestellt zu sein.

In jüngster Zeit haben Abderhalden[5]) und seine Mitarbeiter Versuche ausgeführt, auf Grund welcher sie die Theorie von der spezifischen Fermentwirkung aufgestellt haben. Namentlich fand Abderhalden eine derartige Fermentspezifität bei graviden Sera, die nur Placentaeiweiß abbauen sollen. Es liegt über diese Frage bereits eine äußerst umfangreiche Literatur vor, worin auch zahlreiche Autoren die Annahme einer Fermentspezifität zu bekämpfen suchen. Es mögen hier nur die Versuchsergebnisse von Stefan[6]) erwähnt werden, da diese mit den Resultaten vorliegender Arbeit leicht in Zusammenhang zu bringen sind. Stefan gelang es, durch Normalkomplementzusatz ein biologisch unwirksames Serum im Dialysierversuch zu aktivieren. Ferner gelang

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 57, 80, 1908; 61, 1, 72, 1909.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 88, H. 6, S. 430, 1913.
[3]) Diese Zeitschr. 56, H. 4, S. 291, 1913.
[4]) Diese Zeitschr. 58, H. 4/5, S. 329, 1913.
[5]) Abwehrfermente, 4. Aufl. 1914.
[6]) Münch. med. Wochenschr. 1914, H. 15, S. 802.

es ganz regelmäßig, hierdurch den Ausfall der Reaktion in ungewöhnlich intensiver Weise zu verstärken. Ebenso konnte man im Dialysierversuch, in eindeutiger Weise, hitzeinaktivierte Seren aktivieren, vorausgesetzt, daß bestimmte quantitative Verhältnisse eingehalten wurden.

Verfasser[1]) hat sich besonders mit der Methodik zum Nachweis der bei solchen Proteolysen entstandenen Abbauprodukte beschäftigt. Bei diesen Versuchen gelang es mit Hilfe der Ruhemannschen Triketohydrindenhydratreaktion eine spektrophotometrische und eine colorimetrische Bestimmungsmethode der dialysierbaren Abbauprodukte auszuarbeiten. Mit Hilfe dieser Methoden war es möglich, sehr schwache Eiweißhydrolysen quantitativ zu verfolgen. So wurden bei der Abderhaldenschen Schwangerschaftsreaktion (Dialysierverfahren) die in den Dialysaten enthaltenen Abbauprodukte quantitativ bestimmt und untereinander verglichen. Hierbei zeigte es sich, daß die graviden Sera schon allein größere Mengen der mit Ninhydrin reagierender Stoffe enthielten als die nichtgraviden Sera. Ferner bauten einerseits auch nichtgravide Sera Placenta ab, nur nicht so stark wie die graviden Sera, andererseits hatten die graviden Sera nicht nur Placenta in dieser Weise abgebaut, sondern auch andere Eiweißkörper, wie Albumin, Fibrin, Casein, Edestin, Vitellin. Die Befunde widersprechen folglich einer Annahme der Spezifität der abbauenden Faktoren, und es scheint aus ihnen hervorzugehen, daß es sich bei positiven und negativen Schwangerschaftsreaktionen nicht um qualitative, sondern um quantitative Unterschiede handeln kann.

Die stets eindeutig festgestellte Tatsache, daß alle stark abbauenden Sera, auch allein dialysiert, größere Mengen mit Ninhydrin reagierender Verbindungen enthielten, legte mir die Vermutung nahe, ob nicht solche dialysierbaren Verbindungen bei der Proteolyse eine wichtige Rolle spielen. Um diese Frage beantworten zu können, schien mir die Untersuchung isolierter Fermentpräparate geeignet zu sein.

Es wurden zunächst je vier Pepsin- und Trypsinpräparate nach den bekannten Verfahren auf ihren Wirkungsgrad geprüft und dementsprechend klassifiziert.

---

[1]) Diese Zeitschr. 59, H. 3/4, 1914.

I.	Pepsin	am besten	wirkend	V.	Trypsin	am besten	wirkend
II.	"	gut	"	VI.	"	gut	"
III.	"	schwach	"	VII.	"	schwach	"
IV.	"	"	"	VIII.	"	"	"

Beim Vergleich des Stickstoffgehaltes obiger Trockenpräparate zeigte sich eine auffallende Übereinstimmung mit dem Wirkungsgrad.

I. Pepsin	= 13,42 % N	V. Trypsin	= 17,45 % N
II. "	= 9,55 % "	VI. "	= 14,71 % "
III. "	= 4,20 % "	VII. "	= 5,68 % "
IV. "	= 4,46 % "	VIII. "	= 5,15 % "

Ferner gingen mit obigen Stickstoffzahlen auch die Mengen der dialysierbaren, mit Ninhydrin reagierenden Stoffe parallel. Es wurden jeweilen 0,1 %ige (in sterilem Wasser gelöst) Lölöngen hergestellt und daraus je 1 ccm = 1 mg in eine Hülse gebracht, mit Toluol überschichtet und in 20 ccm sterilen, destillierten Wassers dialysiert (Dauer 12 bis 16 Stunden). Die so erhaltenen Dialysate wurden dann quantitativ untersucht. Zu all diesen Versuchen ist es dringend notwendig, die Hülsen zu prüfen, und zwar sowohl auf die Eiweißundurchlässigkeit, wie auch auf die Durchlässigkeit für Aminosäuren. Die frisch gelieferten Hülsen werden etwa 1 Stunde in fließendem Wasser liegen gelassen, sodann mit 1 ccm einer Eiweißlösung versetzt, in numerierte, mit je 20 ccm Wasser (steril, destilliert) beschickte Kölbchen gestellt, mit Toluol überschichtet und 12 bis 16 Stunden lang im Brutschrank stehen gelassen. Die Dialysate prüft man dann mit der Biuretreaktion und einer Eiweißreaktion, z. B. Kochprobe oder Sulfosalicylsäureprobe auf Eiweiß.

Die Hülsen, die sich als eiweißundurchlässig erwiesen, wurden hierauf 2 bis 3 Stunden gewässert und mit je 1 ccm einer 0,1 %igen Glykokollösung versetzt und wie oben dialysiert. Die Dialysate dampfte man[1]) mit je 0,5 ccm einer 1 %igen Ninhydrinlösung auf dem Wasserbade ein, löste in je 10-ccm-Portionen den Rückstand in 90 %igem Alkohol, bis der Alkohol farblos blieb. Die vereinigten blauvioletten alkoholischen Lösungen konnten dann, auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt (50 ccm), im Colorimeter verglichen werden. Zur Herstellung der Vergleichslösung dampft man 0,5 ccm 0,1 %iger

[1]) Münch. med. Wochenschr. **1914**, H. 27, S. 1513.

Glykokollösung + 19,5 ccm Wasser mit 0,5 ccm 1 %iger Ninhydrinlösung auf dem Wasserbade zur Trockne ein, löst den Rückstand portionsweise in 50 ccm 90 %igen Alkohols und füllt sie in die Cuvette des Colorimeters. Es empfiehlt sich, nach einigen Tagen eine frische Vergleichslösung herzustellen. Sollte man nicht ganz gleiche Nuancen erhalten, so kann die Schichtdicke so lange verringert werden, bis eben noch eine Farbe erkennbar ist. Wenn „a" die Schichtdicke der Vergleichslösung, „b" die der zu prüfenden Lösung ist, so verhalten sich a : b wie „x" zu 0,5 mg Glykokoll, vorausgesetzt, daß die zu prüfende Lösung bis zu derselben Marke (50 ccm) aufgefüllt ist wie die Vergleichslösung. Als brauchbar wurden auch diejenigen Hülsen angesehen, die zwar nicht sehr gut, jedoch untereinander gleich durchlässig waren.

Um festzustellen, wieviel die oben klassifizierten Fermentpräparate von den mit Ninhydrin reagierenden Stoffen bei der Dialyse abgeben, wurde jeweilen eine 0,1 %ige Lösung hergestellt und unter Toluol in 20 ccm dialysiert. Die Dialysate wurden auf dem Wasserbade mit je 0,5 ccm 1 %iger Ninhydrinlösung vorsichtig eingedampft, der Trockenrückstand in 90 %igem Alkohol portionsweise gelöst, bis ein bestimmtes Volumen aufgefüllt, und in die eine Röhre des Spektrophotometers gefüllt (Röhre II). Zur Füllung der anderen Röhre (Röhre I) dampft man 0,5 ccm 1 %iges Ninhydrin ein und löst den Rückstand in 20 ccm 90 %igen Alkohols (eine Menge, die zur Füllung der verwendeten 2 cm langen Röhren ausreicht). War die zu prüfende blauviolette Lösung bis 40, 50, 60 usw. ccm aufgefüllt, so entspricht dies in bezug auf die Kontrollösung einer 2-, 2,5-, 3fachen Verdünnung, und man multipliziert mit der entsprechenden Zahl den Extinktionskoeffizienten. Diesen enthält man mit Hilfe der beiden abgelesenen Winkel α_1 und α_2; und zwar, wenn rechts Röhre I und links Röhre II liegt, so kann man α_1 ablesen, beim Auswechseln der Röhren aber α_2:

$$\varepsilon = \frac{\log \operatorname{tg} \alpha_1 - \log \operatorname{tg} \alpha_2}{d}$$

(ε = Extinktionskoeffizient, d = Röhrenlänge = 2 cm).

Dividiert man den Extinktionskoeffizienten (ε) mit der Konstante = 0,046, die man im Spektrophotometer mit Hilfe

einiger Aminosäuren bestimmen kann, so erhält man die Menge von $—NH_2.COOH$ in 100 ccm Lösung, ausgedrückt in Milligrammen. Durch Multiplikation dieser Zahl mit 1,2 erhält man die entsprechende Glykokollmenge. Die bei der Untersuchung der Fermentpräparate erhaltenen Resultate sind in nachfolgender Tabelle zusammengefaßt. Jeder Versuch wurde stets dreimal wiederholt, in die Tabelle wurden jedoch nur je zwei Versuche aufgenommen. Es möge hervorgehoben werden, daß für jede Versuchsserie frisch destilliertes und steriles Wasser hergestellt wurde; die Kontrollen waren stets negativ.

Tabelle I.

Nummer	Versuch	Verdünnung ccm	Extinktions-koeffizient	100 ccm Lösg. enthalten $—NH_2.COOH$ mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Bemerkungen
1	1 mg Pepsin I in 1 ccm Wasser	20	0,3849	8,36	10,03	
2	1 „ „ I „ 1 „ „	20	0,3889	8,45	10,14	Wiederholung v. Vers. 1.
3	1 „ „ II „ 1 „ „	20	0,2350	5,10	6,12	
4	1 „ „ II „ 1 „ „	20	0,2350	5,10	6,12	do.
5	1 „ „ III „ 1 „ „	20	0,1136	2,46	2,95	
6	1 „ „ III „ 1 „ „	20	0,1050	2,27	2,73	do.
7	1 „ „ IV „ 1 „ „	20	0,0988	2,06	2,47	
8	1 „ „ IV „ 1 „ „	20	0,1050	2,27	2,73	do.
9	1 mg Trypsin I in 1 ccm Wasser	50	0,9975	21,68	26,02	Der gefundene Extinktionskoeffizient wurde mit 2,5 multipliziert.
10	1 „ „ I „ 1 „ „	50	0,9900	21,52	25,82	do.
11	1 „ „ II „ 1 „ „	50	0,7118	15,47	18,57	do.
12	1 „ „ II „ 1 „ „	50	0,7075	15,38	18,46	do.
13	1 „ „ III „ 1 „ „	20	0,2320	5,04	6,05	
14	1 „ „ III „ 1 „ „	20	0,2275	4,94	5,77	
15	1 „ „ IV „ 1 „ „	20	0,1410	3,07	3,69	
16	1 „ „ IV „ 1 „ „	20	0,1450	3,15	3,78	

Vergleicht man aus obiger Tabelle die Mittelwerte der in den Dialysaten erhaltenen, mit Ninhydrin reagierenden Stoffe mit den Prozenten Stickstoff der entsprechenden Fermentpräparate, so findet man sowohl zwischen Wirksamkeit und Stickstoffgehalt, wie auch zwischen Wirksamkeit und Menge der dialysierbaren, mit Ninhydrin reagierenden Stoffe eine auffallende Proportionalität. Das beste Fermentpräparat hat den größten Stickstoffgehalt und Gehalt an dialysierbaren, mit Ninhydrin reagierenden Stoffen, das minderwertigste aber die nie-

drigsten solcher Werte. Interessant ist, daß bei den Pepsinen die Werte für die mit Ninhydrin reagierenden Stoffe durchwegs kleiner sind als bei den Trypsinen, trotzdem daß die Stickstoffzahlen nicht sehr verschieden sind. Da nun in den Dialysaten der Fermentpräparate keine Eiweißkörper nachweisbar waren, lag die Vermutung nahe, daß bei der Dialyse der Pepsine Peptone, bei der Dialyse der Trypsine aber Aminosäuren hinausdiffundieren. Nämlich das Pepton (Polypeptid) wirkt nur mit den freien —NH_2.COOH-Gruppen, nach Spaltung der Peptone in seine Komponenten tritt Vermehrung der wirksamen Gruppen ein. Die Vermutung fand ihre Bekräftigung, da die Dialysate der Pepsine starke Biuretreaktionen zeigten, dagegen fiel diese, besonders bei den guten Trypsinen, negativ aus.

Da vom Pepsin bekannt ist, daß es am besten in einer etwa 0,5%igen HCl-Lösung wirkt, vom Trypsin aber, daß es in einer etwa 0,5%igen Na_2CO_3-Lösung am wirksamsten ist, war es interessant, das Pepsin und Trypsin in solchen Lösungen zu untersuchen. Es wurden deshalb von den guten Fermentpräparaten je 0,1 g Pepsin in 100 ccm 0,15% HCl und je 0,1 g Trypsin in 100 ccm 0,5% Na_2CO_3 gelöst, davon je 1 ccm dialysiert, die Dialysate genau neutralisiert und wie oben weiter untersucht.

Tabelle II.

Nummer	Versuch	Verdünnung ccm	Extinktions-koeffizient	100 ccm Lösg. enthalten —NH_2.COOH mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Bemerkungen
17	1 mg Pepsin I in 1 ccm 0,15% HCl	20	0,3072	6,67	8,00	Versuch 3mal wiederholt.
18	1 „ „ II „ 1 „ 0,15% „	20	0,2548	5,54	6,65	do.
19	1 mg Trypsin I in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	50	0,3893	8,45	10,14	do.
20	1 mg Trypsin II in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	50	0,3259	7,08	8,49	do.

Vergleicht man obige Zahlen mit den entsprechenden in der Tabelle I, so sieht man, daß die Anwesenheit von 0,15% HCl bei den Pepsinen und von 0,5% Na_2CO_3 bei den Trypsinen merkwürdigerweise eine bedeutende Abnahme der dialysierbaren, mit Ninhydrin reagierenden Stoffe bewirkt. Danach

war jetzt zu erwarten, daß die proteolytische Wirkung durch den Säure- bzw. Alkalizusatz geschwächt wird. Dies ließ sich in der Tat feststellen. Man brachte in die Hülse 100 mg Albumin, setzte dann 1 ccm einer entsprechenden 0,1 %igen Pepsin- oder Trypsinlösung hinzu und dialysiert unter Toluol in 20 ccm Wasser. Von den erhaltenen Werten kann durch Abzug der Kontrollen die abgebaute Menge ermittelt werden. Die Resultate sind aus folgender Zusammenstellung ersichtlich.

Tabelle III.

Nummer	Versuch	Verdünnung ccm	Extinktionskoeffizient	100 ccm Lösg. enthalten $-NH_2.COOH$ mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
21	100 mg Albumin + 1 ccm Wasser	20	0,0517	1,12	1,34	—
22	100 mg Albumin + 1 ccm 0,15 % HCl	20	0,0189	0,45	0,54	—
23	100 mg Albumin + 1 ccm 0,5 % Na_2CO_3	20	—	Spuren	—	—
24	1 mg Pepsin in 1 ccm Wasser .	20	0,2213	4,81	5,78	—
25	1 mg Pepsin in 1 ccm 0,15 % HCl	20	0,1499	3,26	3,91	—
26	100 mg Albumin + 1 mg Pepsin in 1 ccm Wasser	20	0,4427	9,62	11,54	4,42
27	100 mg Albumin + 1 mg Pepsin in 1 ccm 0,15 % HCl	20	0,3157	6,86	8,23	3,78
28	1 mg Trypsin in 1 ccm Wasser .	50	0,9410	20,45	24,54	—
29	1 mg Trypsin in 1 ccm 0,5 % Na_2CO_3	50	0,7675	16,68	20,02	—
30	100 mg Albumin + 1 mg Trypsin in 1 ccm Wasser	100	1,9500	43,26	51,92	26,02
31	100 mg Albumin + 1 mg Trypsin in 1 ccm 0,5 % Na_2CO_3 . . .	50	1,1025	26,14	31,37	11,35

Wir sehen also, daß die Anwesenheit von 0,15 % HCl beim Pepsin und die des 0,5 % Na_2CO_3 beim Trypsin auch auf die proteolytische Wirkung einen vermindernden Einfluß ausübt. Da diese Medien eine Verringerung der dialysierbaren, mit Ninhydrin reagierenden Stoffe verursachen, ist anzunehmen, daß diese von der Verminderung solcher Stoffe im Ferment allein herrühren. Oder mit anderen Worten: dieselbe Menge Pepsin oder Trypsin, in Wasser gelöst, geben eine bestimmte Menge dialysierbarer, mit Ninhydrin reagierender Stoffe, aber in 0,15 % HCl bzw. 0,5 % Na_2CO_3 gelöst, davon weniger; ebenso steht es mit der abbauenden Wirkung in den ent-

sprechenden Lösungen, d. h. in wässeriger Lösung wird mehr abgebaut als in saurer bzw. alkalischer Lösung. Diese Befunde unterstützen die oben getroffene Annahme, daß bei der proteolytischen Wirkung der Fermente, der Menge der dialysierbaren, mit Ninhydrin reagierenden Stoffe eine wichtige Rolle zuzuschreiben ist. Auf Grund dieser Befunde bleibt noch die interessante Frage offen, was für eine Rolle der HCl bei der Pepsinwirkung und dem Na_2CO_3 bei der Trypsinwirkung zukommt. Es mögen diesbezüglich folgende Tatsachen erwähnt werden.

Es ist bekannt, daß verschiedene Eiweißkörper durch Säuren und Alkalien von verschiedener Konzentration bei den entsprechenden Temperaturen in Acidalbumine bzw. Alkalialbuminate umgewandelt werden, die dann verhältnismäßig leicht in Albumosen, Peptone und Aminosäuren übergehen. So z. B. wird das Myosin oder Myogen nach Kühne[1]) und v. Fürth[2]) schon durch einen Tropfen $^n/_{10}$-HCl in wenigen Minuten in Acidalbumin übergeführt. Wenn man Eiweiß mit starken Säuren kocht, entstehen die Aminosäuren; läßt man aber verdünnte $^n/_{10}$- oder $^n/_4$-Salz- oder Schwefelsäure bei Zimmer- oder Bruttemperatur einwirken, so entstehen nach Goldschmidt[3]) genau dieselben Albumosen- und Peptonfraktionen, wie sie bei der Verdauung durch Pepsinsalzsäure sich finden. Es scheint also, daß die Wirkung des Pepsins sich in Art und Reihenfolge der Spaltungsprodukte nicht von einer Eiweißspaltung unterscheidet, die durch HCl vor sich geht, daß also das Pepsin die Wirkung der H-Ionen nur katalytisch beschleunigt. Dagegen unterscheidet sich die Pepsinspaltung in Gegenwart schwacher Säuren dadurch von der Spaltung durch starke Säuren, daß sie nicht über die Peptonstufe hinausgeht und daß keine Aminosäuren gebildet werden. Diese Tatsache ist von Kühne[4]) gefunden und von Tobler[5]), Cohnheim[6]), Salaskin[7]) immer wieder bestätigt worden.

---

[1]) Protoplasma und Kontraktilität. Leipzig 1864.
[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **36**, 231, 1895.
[3]) Med. Dissert. Straßburg 1898.
[4]) Unters. a. d. physiol. Inst. Heidelberg **2**, 62, 1878.
[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **45**, 185, 1905.
[6]) Münch. med. Wochenschr. **1907**, 258.
[7]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **32**, 592, 1901; **38**, 507, 1903.

Entsprechend der Spaltung durch verdünnte Säuren hat Maas[1]) Eiweißkörper mit verdünntem Alkali behandelt; dabei bildete sich Alkalialbuminat, aber Peptone konnten nicht gefunden werden, da sie anscheinend weiter gespalten werden.

Auf Grund obiger Tatsachen scheint es hervorzugehen, daß bei der Pepsinverdauung die Säure und bei der Trypsinverdauung das Alkali zunächst eine eiweißlösende Wirkung entfaltet, wobei sich Acidalbumine bzw. Alkalialbuminate bilden, weiterhin aber auch eine Spaltung der Acidalbumine in Peptone, der Alkalialbuminate in Aminosäuren befördert. Die Fermente haben die Fähigkeit, diese Prozesse katalytisch zu beschleunigen. Da schon Wasser allein in geringem Maße auch denaturierte Eiweißkörper zu lösen und hydrolytisch zu spalten vermag, so war es zu erwarten, daß die Fermente auch in wässeriger Lösung ihre katalytische Wirkung entfalten. Wie aus Tabelle III ersichtlich, hatten diese in wässeriger Lösung größere Mengen der mit Ninhydrin reagierenden Stoffe abgespalten als in saurer bzw. alkalischer Lösung.

Aus den bisherigen Versuchen mögen besonders folgende Tatsachen hervorgehoben werden. Die wirksamen Fermentpräparate gaben schon beim Dialysieren allein mehr von den mit Ninhydrin reagierenden Stoffen ab, und bauten von denselben Eiweißkörpern auch mehr solcher Stoffe ab, als die weniger wirksamen. Bei der Dialyse der Pepsine gaben die Dialysate stets die Biuretreaktion, die Trypsindialysate aber nicht; erstere wären also mit Peptonen, letztere mit Aminosäuren vergleichbar. Die Abnahme solcher dialysierbarer Stoffe in saurer bzw. alkalischer Lösung zeigte sich auch bei der Einwirkung auf Eiweißkörper, wobei auch entsprechend weniger der dialysierbaren Stoffe resultierten. Diese Tatsachen brachten Verfasser zu der Annahme, daß sich dialysierbare Eiweißabbauprodukte, wie Peptone und Aminosäuren, bei der Katalyse der Eiweißhydrolysen beteiligen könnten.

Um diese Annahme zu bekräftigen, wurden folgende Versuche ausgeführt. Vier verschiedene Eiweißkörper, Albumin,

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**, 61, 1900.

Fibrin, Casein, Edestin, wurden wiederholt mit Wasser ausgekocht, sodann mit Alkohol und Äther gewaschen, getrocknet und fein pulverisiert. Zu jedem Versuch wurden 100 mg der Eiweißkörper mit 1 ccm der entsprechenden Lösung in geprüften Hülsen wie oben dialysiert. Zunächst sollte die Wirkung der Peptonlösungen geprüft werden; und zwar als erstes Präparat ein Pepton aus Albumin. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt.

Tabelle IV.

Nummer	Versuch	Verdünnung ccm	Extinktions-koeffizient	100 ccm Lösg. enthalten —NH_2.COOH mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
32	1 mg Pepton aus Albumin in 1 ccm Wasser	50	0,9000	19,56	23,47	—
33	100 mg Albumin in 1 ccm Wasser	20	0,0517	1,12	1,34	—
34	100 mg Albumin + 1 mg Pepton aus Albumin in 1 ccm Wasser .	50	1,4250	35,32	42,38	17,57
35	100 mg Fibrin in 1 ccm Wasser	20	—	Spuren	—	—
36	100 mg Fibrin + 1 mg Pepton aus Albumin in 1 ccm Wasser . . .	50	1,2400	29,96	35,95	12,48
37	100 mg Casein in 1 ccm Wasser .	20	0,0304	0,66	0,79	—
38	100 mg Casein + 1 mg Pepton aus Albumin in 1 ccm Wasser . . .	50	0,8600	18,69	22,43	—
39	100 mg Edestin in 1 ccm Wasser	20	0,0669	1,45	1,74	—
40	100 mg Edestin + 1 mg Pepton aus Albumin in 1 ccm Wasser .	50	0,9590	20,84	25,01	—
41	1 mg Pepton aus Albumin in 1 ccm 0,15% HCl	20	0,0613	1,33	1,59	—
42	100 mg Alb. in 1 ccm 0,16% HCl	20	0,0189	0,45	0,54	—
43	100 mg Albumin + 1 mg Pepton aus Alb. in 1 ccm 0,15% HCl	20	0,1750	3,81	4,58	2,44
44	100 mg Fibrin in 1 ccm 0,15% HCl	20	0,0895	1,94	2,33	—
45	100 mg Fibrin + 1 mg Pepton aus Albumin in 1 ccm 0,15% HCl .	20	0,1690	3,67	4,41	0,49
46	100 mg Casein in 1 ccm 0,15% HCl	20	0,0212	0,46	0,55	—
47	100 mg Casein + 1 mg Pepton aus Albumin in 1 ccm 0,15% HCl .	20	0,0750	1,63	1,96	—
48	100 mg Edestin in 1 ccm 0,15% HCl	20	0,0265	0,57	0,70	—
49	100 mg Edestin + 1 mg Pepton aus Albumin in 1 ccm 0,15% HCl	20	0,0868	1,88	2,26	—

Aus obiger Tabelle gehen folgende wichtige Tatsachen hervor. Auch Peptone allein können, ähnlich den Pepsinen, proteolytische Prozesse beschleunigen. Die Ab-

nahme der dialysierbaren, mit Ninhydrin reagierenden Stoffe, bei Anwendung von 0,15 % iger HCl für Pepsin, konnte auch unter gleichen Bedingungen für ein Pepton gefunden werden. Besonders interessant war das Auftreten einer gewissen Art von Spezifität des Peptons, d. h. dies Pepton aus Albumin hat besonders stark die Hydrolyse des Albumins und weniger stark die des Fibrins katalysiert, dagegen übte es auf die Hydrolyse von Casein und Edestin keine Wirkung aus. Auf Grund dieser Befunde kann die oben getroffene Annahme, daß das Pepsin ein peptonähnlicher Körper sei, bestätigt werden. Zur Bekräftigung des obenerwähnten Befundes über die Spezifität der Katalyse durch Peptone wurden folgende in der Tabelle V zusammengefaßten Versuche ausgeführt. Je 1 ccm einer 0,1 % igen Seidenpeptonlösung = 1 mg wurden mit obigem Eiweißkörper angesetzt, sodann auch mit Rohseide.

Tabelle V.

Nummer	Versuch	Verdünnung ccm	Extinktionskoeffizient	100 ccm Lösg. enthalten $-NH_2.COOH$ mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
50	1 mg Seidenpepton in 1 ccm Wasser	50	0,7678	16,68	20,02	—
51	100 mg Albumin + 1 mg Seidenpepton in 1 ccm Wasser	50	0,7855	17,06	20,47	—
52	100 mg Fibrin + 1 mg Seidenpepton in 1 ccm Wasser	50	0,7548	16,39	19,67	—
53	100 mg Casein + 1 mg Seidenpepton in 1 ccm Wasser	50	0,7265	15,79	18,94	—
54	100 mg Edestin + 1 mg Seidenpepton in 1 ccm Wasser	50	0,7425	16,13	19,36	—
55	1 mg Seidenpept. in 1 ccm 0,15 % HCl	50	0,2510	5,46	6,55	—
56	100 mg Albumin + 1 mg Seidenpepton in 1 ccm 0,15 % HCl . .	50	0,2885	6,27	7,52	—
57	100 mg Fibrin + 1 mg Seidenpepton in 1 ccm 0,15 % HCl . .	50	0,2863	6,22	7,46	—
58	100 mg Casein + 1 mg Seidenpeptou in 1 ccm 0,15 % HCl . .	50	0,2352	5,11	6,13	—
59	100 mg Edestin + 1 mg Seidenpepton in 1 ccm 0,15 % HCl . .	50	0,2840	6,17	7,41	—
60	100 mg Rohseide in 1 ccm Wasser	20	0,0593	1,29	1,55	—
61	100 mg Rohseide + 1 mg Seidenpepton in 1 ccm Wasser	50	0,9583	20,83	25,00	3,43
62	100 mg Rohseide in 1 ccm 0,15 % HCl	20	0,0539	1,17	1,41	—
63	100 mg Rohseide + 1 mg Seidenpepton in 1 ccm 0,15 % HCl . .	50	0,6018	13,08	15,70	7,59

Obige Versuche bestätigen auch den Befund von der Spezifität der katalysierenden Peptone, d. h. Seidenpepton beschleunigt die Hydrolyse von Rohseide, nicht aber die von Albumin, Fibrin, Casein und Edestin. Auch hier konnte die vermindernde Wirkung der 0,15 %igen HCl auf die dialysierbaren, mit Ninhydrin reagierenden Stoffe konstatiert werden.

Nach dieser Anschauung müßte auch das Pepsin ein Gemisch von Peptonen enthalten, die den Eiweißkörpern der aufgenommenen Nahrung entsprechen. Wie sich nun das Pepsin einigen Eiweißkörpern gegenüber verhält, d. h. wieviel diesen Eiweißkörpern entsprechende Peptone darin enthalten sind, sollte in der folgenden Versuchsserie ermittelt werden.

Tabelle VI.

Nummer	Versuch	Verdünnung ccm	Extinktions-koeffizient	100 ccm Lösg. enthalten $-NH_2.COOH$ mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
64	1 mg Pepsin in 1 ccm Wasser . .	20	0,2213	4,81	5,78	—
65	100 mg Albumin + 1 mg Pepsin in 1 ccm Wasser	20	0,4427	9,62	11,54	4,35
66	100 mg Fibrin + 1 mg Pepsin in 1 ccm Wasser	20	0,3496	7,60	9,12	3,35
67	100 mg Casein + 1 mg Pepsin in 1 ccm Wasser	20	0,6560	14,26	17,11	10,55
68	100 mg Edestin + 1 mg Pepsin in 1 ccm Wasser	20	0,2619	5,69	6,83	—
69	1 mg Pepsin in 1 ccm 0,15 % HCl	20	0,1180	2,56	3,07	—
70	100 mg Albumin + 1 mg Pepsin in 1 ccm 0,15 % HCl	20	0,2290	4,98	5,98	3,16
71	100 mg Fibrin + 1 mg Pepsin in 1 ccm 0,15 % HCl	20	0,3314	7,19	8,62	3,22
72	100 mg Casein + 1 mg Pepsin in 1 ccm 0,15 % HCl	20	0,3913	8,50	10,20	6,58
73	100 mg Edestin + 1 mg Pepsin in 1 ccm 0,15 % HCl	20	0,1499	3,26	3,91	—

Obiges Pepsinpräparat scheint also Peptone vom Casein, Albumin und Fibrin zu enthalten, nicht aber vom Edestin. Und zwar, da die Reaktion auf Casein am stärksten war, enthält es ziemlich viel Pepton aus Casein.

Man könnte sich also die Verdauung der Eiweißkörper im Magen so vorstellen, daß dieselben durch die freie Salzsäure zunächst in Acidalbumine übergeführt, sodann diese in Albu-

mosen und Peptone weiter gespalten werden, wobei die im Magen schon vorhandenen Peptone und solche, die mit der Nahrung zugeführt werden, eine katalytische Wirkung ausüben, d. h. die Rolle des Pepsins spielen. Für die Wahrscheinlichkeit obiger Annahme sprechen therapeutische Erfolge mit einzelnen Peptonpräparaten, durch welche man die Verdauung im Magen „anregen“ kann. Selbstverständlich gibt es noch zahlreiche Faktoren, die bei der Magenverdauung eine Rolle spielen können, so z. B. Aciditätsgrad, Konzentrationsverhältnisse, Anwesenheit von Kolloiden usw.

Als typisches Schulbeispiel für die katalytische Wirkung der entsprechenden Peptone bei der Hydrolyse der Eiweißkörper möge folgender Versuch angeführt werden. Man löst 0,5 g Pepton aus Fibrin in 100 ccm 0,15 °/$_0$ iger HCl, setzt 0,5 g große Fibrinflocken hinzu, überschichtet mit Toluol und läßt im Brutschrank stehen. Nach 2 mal 24 Stunden sind alle Fibrinflocken fast vollständig aufgelöst.

Im Anschluß an diese Versuche war es interessant festzustellen, ob auch ein synthetisch hergestelltes Dipeptid das Leucylglycin bei der Eiweißhydrolyse die Rolle eines Katalysators übernehmen kann. Es wurde zu diesem Zwecke ein einfaches Dipeptid, das Leucylglycin, gewählt. 0,1 g Leucylglycin wurden in heißem Wasser gelöst und nach dem Abkühlen bis 100 ccm aufgefüllt. Je 1 ccm = 1 mg dieser Lösung wurden wie oben mit 100 mg Albumin, Fibrin, Casein und Edestin angesetzt.

Tabelle VII.

Nummer	Versuch	Verdünnung ccm	Extinktionskoeffizient	100 ccm Lösg. enthalten $-NH_2$, COOH mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
74	1 mg Leucylglycin in 1 ccm Wasser	50	0,5200	11,30	13,56	—
75	100 mg Albumin + 1 mg Leucylglycin in 1 ccm Wasser	50	0,6225	13,53	16,23	1,33
76	100 mg Fibrin + 1 mg Leucylglycin in 1 ccm Wasser	50	0,5950	12,93	15,51	1,95
77	100 mg Casein + 1 mg Leucylglycin in 1 ccm Wasser	50	0,6223	13,52	16,22	1,87
78	100 mg Edestin + 1 mg Leucylglycin in 1 ccm Wasser	50	0,5830	12,67	15,20	—

Somit ist auch die katalytische Wirkung eines synthetisch hergestellten Dipeptids nachgewiesen, und es scheint sich zu bestätigen, daß bei der Proteolyse, die zu Peptonen führt, die Anwesenheit von peptidartigen Körpern von großer Bedeutung ist.

Auf Grund obiger Resultate war zu erwarten, daß ähnlich wie das Pepsin peptonähnliche Körper enthält, im Trypsin Aminsäuren bzw. deren Derivate vorhanden sein können. Diese Annahme fand durch folgende Versuche eine festere Grundlage. Es sollte zunächst geprüft werden, ob ein Dipeptid, das Leucylglycin, durch die katalytische Wirkung des Glykokolls und des Leucins hydrolysiert werden kann.

Tabelle VIII.

Nummer	Versuch	Verdünnung ccm	Extinktions-koeffizient	100 ccm Lösg. enthalten –NH_2.COOH mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
79	0,5 mg Leucylglycin in 1 ccm Wasser	50	0,3042	6,61	7,94	—
80	0,5 mg Glykokoll in 1 ccm Wasser	50	0,2960	6,43	7,72	—
81	0,5 mg Leucylglycin + 0,5 mg Glykokoll in 1 ccm Wasser	50	0,8475	18,42	22,10	6,45
82	0,5 mg Leucin in 1 ccm Wasser	50	0,7475	16,25	19,50	—
83	0,5 mg Leucylglycin + 0,5 mg Leucin in 1 ccm Wasser	50	1,4490	31,50	37,80	10,36

Es bestätigte sich also, daß bei der Hydrolyse eines Dipeptids die entsprechenden Aminsäuren eine starke katalytische Wirkung ausüben. In den folgenden Versuchen wurde die Wirkung einiger Aminsäuren auf einige Eiweißkörper geprüft.

Aus Tabelle IX ist ersichtlich, daß auch reine Aminosäuren die Rolle eines proteolytischen Fermentes übernehmen können. Besonders Glykokoll, dann auch Leucin, Glutaminsäure und Alanin konnten Eiweißhydrolysen besonders stark beschleunigen, dagegen hatte das Phenylalanin nur eine schwache Wirkung und die Asparaginsäure und das Tryptophan gar keine abbauende Fähigkeit.

Tabelle IX.

Nummer	Versuch	Verdünnung ccm	Extinktionskoeffizient	100 ccm Lösg. enthalten $-NH_2.COOH$ mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
84	1 mg Glykokoll in 1 ccm Wasser	50	1,5550	33,80	40,56	—
85	100 mg Albumin + 1 mg Glykokoll in 1 ccm Wasser	100	1,9585	42,57	51,09	9,18
86	100 mg Fibrin + 1 mg Glykokoll in 1 ccm Wasser	100	1,6820	36,56	43,87	3,31
87	100 mg Casein + 1 mg Glykokoll in 1 ccm Wasser	100	2,1250	46,19	55,43	14,08
88	100 mg Edestin + 1 mg Glykokoll in 1 ccm Wasser	100	1,6925	36,79	44,15	1,85
89	1 mg Alanin in 1 ccm Wasser	100	2,4850	54,02	64,83	—
90	100 mg Albumin + 1 mg Alanin in 1 ccm Wasser	100	3,8600	83,91	100,70	34,53
91	100 mg Fibrin + 1 mg Alanin in 1 ccm Wasser	100	2,6800	58,26	69,91	5,09
92	100 mg Casein + 1 mg Alanin in 1 ccm Wasser	100	2,5000	54,35	65,23	—
93	100 mg Edestin + 1 mg Alanin in 1 ccm Wasser	100	3,3400	72,61	87,14	20,59
94	1 mg Asparaginsäure in 1 ccm Wasser	50	0,9250	20,10	24,12	—
95	100 mg Albumin + 1 mg Asparaginsäure in 1 ccm Wasser	50	0,9000	19,56	23,47	—
96	100 mg Fibrin + 1 mg Asparaginsäure in 1 ccm Wasser	50	0,9288	20,19	24,23	—
97	100 mg Casein + 1 mg Asparaginsäure in 1 ccm Wasser	50	0,9248	20,10	24,12	—
98	100 mg Edestin + 1 mg Asparaginsäure in 1 ccm Wasser	50	0,9400	20,43	24,52	—
99	1 mg Glutaminsäure in 1 ccm Wasser	50	2,3425	50,92	61,10	—
100	100 mg Albumin + 1 mg Glutaminsäure in 1 ccm Wasser	100	2,7800	60,43	72,36	11,56
101	100 mg Fibrin + 1 mg Glutaminsäure in 1 ccm Wasser	100	2,9795	64,77	77,73	16,62
102	100 mg Casein + 1 mg Glutaminsäure in 1 ccm Wasser	100	2,7450	59,67	71,61	9,71
103	100 mg Edestin + 1 mg Glutaminsäure in 1 ccm Wasser	100	2,6900	57,39	71,87	6,02
104	1 mg Leucin in 1 ccm Wasser	100	2,8800	62,60	75,12	—
105	100 mg Albumin + 1 mg Leucin in 1 ccm Wasser	100	3,9480	85,82	102,98	26,52
106	100 mg Fibrin + 1 mg Leucin in 1 ccm Wasser	100	2,8500	61,95	74,34	—
107	100 mg Casein + 1 mg Leucin in 1 ccm Wasser	100	3,3040	71,82	86,18	10,20
108	100 mg Edestin + 1 mg Leucin in 1 ccm Wasser	100	2,8080	60,93	73,12	—
109	1 mg Phenylalanin in 1 ccm Wasser	50	0,9398	20,43	24,52	—

Tabelle IX (Fortsetzung).

Nummer	Versuch	Verdünnung ccm	Extinktionskoeffizient	100 ccm Lösg. enthalten $-NH_2.COOH$ mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
110	100 mg Albumin + 1 mg Phenylalanin in 1 ccm Wasser	50	1,0863	23,61	28,34	2,47
111	100 mg Fibrin + 1 mg Phenylalanin in 1 ccm Wasser	50	1,1325	24,61	29,54	5,02
112	100 mg Casein + 1 mg Phenylalanin in 1 ccm Wasser	50	0,9925	21,57	25,89	0,48
113	100 mg Edestin + 1 mg Phenylalanin in 1 ccm Wasser	50	1,1125	24,17	29,01	2,74
114	1 mg Tryptophan in 1 ccm Wasser	50	0,9050	19,67	23,61	—
115	100 mg Albumin + 1 mg Tryptophan in 1 ccm Wasser	50	0,8400	18,26	21,91	—
116	100 mg Fibrin + 1 mg Tryptophan in 1 ccm Wasser	50	0,8900	19,38	23,26	—
117	100 mg Casein + 1 mg Tryptophan in 1 ccm Wasser	50	0,8350	18,15	21,78	—
118	100 mg Edestin + 1 mg Tryptophan in 1 ccm Wasser	50	0,8675	18,86	22,63	—

Tabelle X.

Nummer	Versuch	Verdünnung ccm	Extinktionskoeffizient	100 ccm Lösg. enthalten $-NH_2.COOH$ mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
119	1 mg Trypsin in 1 ccm Wasser .	50	1,7050	37,50	45,00	—
120	100 mg Albumin + 1 mg Trypsin in 1 ccm Wasser	100	3,6925	80,27	96,33	49,98
121	100 mg Fibrin + 1 mg Trypsin in 1 ccm Wasser	100	3,1050	67,50	81,00	36,00
122	100 mg Casein + 1 mg Trypsin in 1 ccm Wasser	100	3,8000	82,82	99,38	53,59
123	100 mg Edestin + 1 mg Trypsin in 1 ccm Wasser	50	1,898	41,08	49,30	2,55
124	1 mg Trypsin in 0,5% Na_2CO_3 .	50	0,9688	21,06	25,27	—
125	100 mg Alb. in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	20	—	Spuren	—	—
126	100 mg Fibrin in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	20	0,1570	3,42	4,10	—
127	100 „ Casein „ 1 „ 0,5% „	20	0,1034	2,24	2,69	—
128	100 „ Edestin „ 1 „ 0,5% „	20	—	Spuren	—	—
129	100 mg Albumin + 1 mg Trypsin in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	100	1,8155	39,47	47,37	20,75
130	100 mg Fibrin + 1 mg Trypsin in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	100	1,5090	32,80	39,36	9,98
131	100 mg Casein + 1 mg Trypsin in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	100	1,9500	43,26	51,91	23,16
132	100 mg Edestin + 1 mg Trypsin in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	100	1,3910	30,24	36,29	9,27

Um die Wirkung der Aminosäuren mit der typischen Wirkung vergleichen zu können, wurden obige Eiweißkörper unter gleichen Bedingungen mit je 1 mg eines wirksamen Trypsinpräparates angesetzt. Hierbei wurden vorstehende Resultate erhalten (Tabelle X).

Auch beim Trypsin konnte festgestellt werden, daß die Menge der dialysierbaren, mit Ninhydrin reagierenden Stoffe in 0,5% Na_2CO_3 abnimmt und dementsprechend die abbauende Fähigkeit verringert wurde. Nur bei Versuch 132 ist für Edestin eine Zunahme dieser Stoffe in 0,5% Na_2CO_3 zu sehen. Es soll nochmals betont werden, daß jeder in die Tabellen aufgenommene Versuch mindestens dreimal wiederholt wurde, und die angegebenen Resultate sind Mittelwerte der drei Versuche.

Die nächste Versuchsserie bezweckte festzustellen, ob die Aminosäuren gegenüber einer 0,5%igen Na_2CO_3-Lösung auch eine derartige Empfindlichkeit zeigen. Hierbei sollte auch geprüft werden, ob ein Gemisch zweier Aminosäuren eine noch

Tabelle XI.

Nummer	Versuch	Verdünnung ccm	Extinktionskoeffizient	100 ccm Lösg. enthalten $-NH_2.COOH$ mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
133	1 mg Glykokoll + Alanin (Gl. + Al.) in 1 ccm Wasser	50	1,4300	31,08	37,30	—
134	100 mg Albumin + 1 mg (Gl. + Al.) in 1 ccm Wasser	50	2,0637	44,86	53,83	15,16
135	100 mg Fibrin + 1 mg (Gl. + Al.) in 1 ccm Wasser	50	1,7735	38,55	46,26	8,97
136	100 mg Casein + 1 mg (Gl. + Al.) in 1 ccm Wasser	50	1,6750	36,41	43,70	5,61
137	100 mg Edestin + 1 mg (Gl. + Al.) in 1 ccm Wasser	50	2,3023	50,05	60,02	20,98
138	1 mg Glykokoll + Alanin (Gl. + Al.) in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	50	0,6935	15,07	18,09	—
139	100 mg Albumin + 1 mg (Gl. + Al.) in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	50	1,0828	23,54	28,25	10,16
140	100 mg Fibrin + 1 mg (Gl. + Al.) in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	50	1,0623	23,09	27,71	5,52
141	100 mg Casein + 1 mg (Gl. + Al.) in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	50	0,8510	18,50	22,20	1,42
142	100 mg Edestin + 1 mg (Gl. + Al.) in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	50	1,3735	29,86	35,80	17,7

günstigere katalytische Wirkung ausübt. Es wurden 50 mg Glykokoll und 50 mg Alanin in 100 ccm Wasser gelöst und davon je 1 ccm gleich 1 mg Glykokoll-Alaningemisch mit je 100 mg Eiweiß wie oben angesetzt.

Aus obigen Versuchen (Tab. XI) geht hervor, daß auch ein Gemisch von Glykokoll und Alanin die Hydrolyse obiger Eiweißkörper beträchtlich beschleunigen kann; ferner zeigt sich in einer 0,5%igen Na_2CO_3-Lösung eine ganz ähnliche Abnahme der mit Ninhydrin reagierenden Stoffe wie beim verarbeiteten Trypsinpräparat.

In analoger Weise wurde eine Versuchsserie mit einem Aminosäurengemisch, bestehend aus 7 Aminosäuren, ausgeführt. Das Gemisch wurde wie folgt dargestellt: Man löste 20 mg Glykokoll, 20 mg Alanin, 20 mg Leucin, 10 mg Glutaminsäure, 10 mg Asparaginsäure, 10 mg Phenylalanin und wenig Tryptophan in 100 ccm Wasser auf. Zu jedem Versuch wurden 100 mg vom Eiweiß mit 1 mg aus obigem Gemisch angesetzt; ebenso wurde auch hier die Wirkung einer 0,5%igen Na_2CO_3-Lösung geprüft. In der folgenden Tabelle ist das Gemisch der Aminosäure mit „A-Gemisch" bezeichnet.

Tabelle XII.

Nummer	Versuch	Verdünnung ccm	Extinktionskoeffizient	100 ccm Lösg. enthalten $-NH_2 \cdot COOH$ mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
143	1 mg A-Gemisch in 1 ccm Wasser	100	2,1725	47,22	56,66	—
144	100 mg Albumin + 1 mg A-Gemisch in 1 ccm Wasser	100	2,6800	58,28	69,94	11,93
145	100 mg Fibrin + 1 mg A-Gemisch in 1 ccm Wasser	100	2,5350	55,10	66,12	11,86
146	100 mg Casein + 1 mg A-Gemisch in 1 ccm Wasser	100	2,6480	57,56	69,07	11,62
147	100 mg Edestin + 1 mg A-Gemisch in 1 ccm Wasser	100	2,5700	55,87	67,05	8,64
148	1 mg A-Gemisch in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	50	1,1338	24,65	29,58	—
149	100 mg Albumin + 1 mg A-Gemisch in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	50	1,3775	29,94	35,93	6,34
150	100 mg Fibrin + 1 mg A-Gemisch in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	50	1,5070	32,76	39,31	5,62
151	100 mg Casein + 1 mg A-Gemisch in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	50	1,4548	31,62	37,94	5,67
152	100 mg Edestin + 1 mg A-Gemisch in 1 ccm 0,5% Na_2CO_3	50	1,5140	32,95	39,54	9,96

Wie ersichtlich, hat obiges Aminosäurengemisch eine ziemlich gleichmäßige katalytische Wirkung auf die Hydrolyse der Eiweißkörper. Ferner verursachte auch hier die 0,5 %ige Na_2CO_3-Lösung eine Abnahme der mit Ninhydrin reagierenden Stoffe wie beim Trypsin.

Bisher wurde die proteolytische bzw. katalytische Wirkung bei der Proteolyse mit der Ninhydrinreaktion gemessen, nun sollte versucht werden, die Menge der hydrolysierten, dialysierbaren Stoffe direkt auf gravimetrischem Wege zu ermitteln. Es wurden deshalb in geprüften Hülsen 1. dreimal 100 mg Fibrin in 1 ccm Wasser, 2. in drei anderen Hülsen je 1 ccm einer 10 %igen Glykokollösung gleich 100 mg Glykokoll, und 3. in weiteren drei Hülsen je 100 mg Fibrin + 100 mg Glykokoll angesetzt und in 20 ccm Wasser dialysiert. Nach 24 Stunden wurden die entsprechenden Dialysate in gewogenen Porzellanschälchen auf dem Wasserbade vorsichtig eingetrocknet und bis zur Gewichtskonstanz im Exsiccator stehen gelassen.

Versuch a.

1. Fibrin allein (3 Hülsen):

Schale + Rückstand . . .	12,7561 g
Schale	12,7305 g
Rückstand	**0,0256** g.

2. Glykokoll allein (3 Hülsen):

Schale + Rückstand . . .	12,1302 g
Schale	11,8400 g
Rückstand	**0,2902** g.

3. Fibrin + Glykokoll (3 Hülsen):

Schale + Rückstand . . .	12,7037 g
Schale	12,3255 g
Rückstand	**0,3782** g.

Versuch b.

1. Fibrin allein (3 Hülsen):

Schale + Rückstand . . .	12,0982 g
Schale	12,0780 g
Rückstand	**0,0202** g.

2. Glykokoll allein (3 Hülsen):

Schale + Rückstand . . .	13,0317 g
Schale	12,7305 g
Rückstand	**0,3012** g.

3. Fibrin + Glykokoll (3 Hülsen):

Schale + Rückstand . . .	12,6164 g
Schale	11,8400 g
Rückstand	**0,3764** g.

Nach Abzug der Kontrollen beträgt die durch die katalytische Wirkung des Glykokolls hervorgerufene Hydrolyse bei Versuch a 0,0624 g, bei Versuch b 0,0550 g, was einem Mittelwert von **0,0587** g entsprechen würde. Es zeigte sich also, daß selbst mit Hilfe einer solchen, wenig empfindlichen Methode eine der tryptischen ähnliche Wirkung des Glykokolls nachgewiesen werden kann.

Tabelle XIII.

100 mg Hühnereiweiß in 100 ccm Wasser.

Nummer	Zeit der Untersuchung	Verarbeitete Menge ccm	Verdünnung ccm	Extinktions-koeffizient	100 ccm Lösg. enthalten $-NH_2.COOH$ mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
153	Sofort nach erfolgter Lösg.	1	20	0,1093	2,37	2,85	—
154	Nach 1 Std.	1	20	0,1158	2,51	3,02	0,17
155	„ 5 „	1	20	0,1372	2,98	3,58	0,73
156	„ 25 „	1	20	0,1364	2,91	3,56	0,71
157	„ 50 „	1	20	0,1402	3,05	3,66	0,82
158	„ 100 „	1	20	0,1417	3,08	3,70	0,85
159	„ 500 „	1	20	0,1491	3,24	3,89	1,04
160	„ 1000 „	1	20	0,1506	3,28	3,94	1,09

Es war auch von großer Wichtigkeit, den Verlauf einer derartigen katalytischen Wirkung quantitativ zu verfolgen. Für diese Versuche wurde das käufliche, getrocknete Hühnereiweiß gewählt, da es in Wasser ziemlich gut löslich ist, um auf diese Weise die katalytische Wirkung des Glykokolls verfolgen zu können. Man löste die notwendige Menge in 100 ccm kaltem, sterilem Wasser auf, überschichtete es mit Toluol und ließ es im Brutschranke stehen. Von Zeit zu Zeit wurden dann Proben von 0,5 bis 1,0 ccm nach Bedarf daraus ent-

nommen und mit 0,5 ccm Ninhydrin auf dem Wasserbade vorsichtig eingetrocknet. Der Trockenrückstand wurde in Portionen von etwa 10 ccm in 90%igem Alkohol in der Wärme digeriert, bis der Alkohol farblos und der Rückstand gelblich gefärbt blieb. Die vereinigten alkoholischen Extrakte wurden dann wie oben spektrophotometrisch untersucht.

Aus Tabelle XIII ist ersichtlich, daß eine Eiweißlösung, die schon eine kleine Menge Abbauprodukte enthält, durch diese im Verlauf einiger Zeit hydrolysiert wird, wenn auch in geringem Maße. Vielleicht ist die Anwesenheit der Eiweißabbauprodukte auch bei der Auflösung von Eiweißkörpern wichtig. Man bedenke, daß getrocknetes Hühnereiweiß in Wasser ziemlich leicht löslich ist, und es sind hierbei auch Abbauprodukte nachweisbar; koaguliert man aber durch Kochen das Hühnereiweiß und entfernt die Abbauprodukte auf diese Weise, so ist das Koagulum in Wasser unlöslich. Wie oben beschrieben, kann man aber solche koagulierten Eiweißkörper bei Anwesenheit der ihnen entsprechenden Peptone wieder in Lösung bringen.

In der nächsten Versuchsserie wurde die Wirkung von 1 mg Glykokoll auf obige Lösung geprüft.

Tabelle XIV.

100 mg Hühnereiweiß + 1 mg Glykokoll in 100 ccm Wasser.

Nummer	Zeit der Untersuchung	Verarbeitete Menge ccm	Verdünnung ccm	Extinktionskoeffizient	100 ccm Lösg. enthalten $-NH_2.COOH$ mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
161	Sofort nach erfolgter Lösg.	1	20	0,1372	2,98	3,58	—
162	Nach 1 Std.	1	20	0,1372	2,98	3,58	—
163	„ 5 „	1	20	0,1612	3,50	4,20	0,62
164	„ 25 „	1	20	0,1599	3,48	4,18	0,60
165	„ 50 „	1	20	0,1686	3,66	4,39	0,82
166	„ 100 „	1	20	0,1696	3,68	4,42	0,84
167	„ 500 „	1	20	0,1755	3,81	4,58	1,00
168	„ 1000 „	1	20	0,1847	4,02	4,82	1,25

Man sieht, daß schon der Zusatz von 1 mg Glykokoll eine merkliche Beschleunigung der Hydrolyse hervorrufen kann. Viel deutlicher ist die Beschleunigung bei Vergrößerung der zugesetzten Glykokollmenge.

Tabelle XV.

100 mg Hühnereiweiß + 5 mg Glykokoll in 100 ccm Wasser.

Nummer	Zeit der Untersuchung	Verarbeitete Menge ccm	Verdünnung ccm	Extinktions-koeffizient	100 ccm Lösg. enthalten —NH_2.COOH mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
169	Sofort nach erfolgter Lösg.	1	20	0,3314	7,20	8,64	—
170	Nach 1 Std.	1	20	0,3335	7,25	8,70	0,06
171	„ 5 „	1	20	0,3335	7,25	8,70	0,06
172	„ 25 „	1	20	0,3372	7,33	8,79	0,15
173	„ 50 „	1	50	0,3755	8,16	9,79	1,15
174	„ 100 „	1	50	0,4793	10,42	12,50	3,86
175	„ 500 „	1	50	0,4960	10,77	12,91	4,27
176	„ 1000 „	1	50	0,4584	9,97	11,97	3,33

Interessant ist es, daß von 500 bis 1000 Stunden die bis dahin angestiegenen Mengen der Abbauprodukte an einem nicht ermittelten Zeitpunkte wieder abnehmen. Es kann an die Möglichkeit gedacht werden, daß hierbei die Abbauprodukte wieder zu einer Synthese zusammengetreten sind.

Tabelle XVI.

100 mg Hühnereiweiß + 10 mg Glykokoll in 100 ccm Wasser.

Nummer	Zeit der Untersuchung	Verarbeitete Menge ccm	Verdünnung ccm	Extinktions-koeffizient	100 ccm Lösg. enthalten —NH_2.COOH mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
177	Sofort nach erfolgter Lösg.	1	20	0,4844	10,53	12,64	—
178	Nach 1 Std.	1	20	0,4871	10,59	12,71	0,07
179	„ 5 „	1	20	0,4910	10,67	12,80	0,16
180	„ 25 „	1	20	0,4957	10,77	12,93	0,29
181	„ 50 „	1	50	0,5900	12,85	15,42	2,78
182	„ 100 „	1	50	0,6675	14,51	17,42	4,78
183	„ 500 „	1	50	0,6885	14,97	17,97	5,33
184	„ 1000 „	1	50	0,6575	14,29	17,15	4,51

Eine weitere Vermehrung der Glykokollmenge beschleunigt auch hier bedeutend die Hydrolyse, und auch hier ist ein deutlicher Rückgang der Reaktion bemerkbar.

In der folgenden Versuchsserie wurde die Wirkung von 100 mg Glykokoll auf 100 mg Hühnereiweiß beobachtet.

Tabelle XVII.

100 mg Hühnereiweiß + 100 mg Glykokoll in 100 ccm Wasser.

Nummer	Zeit der Untersuchung	Verarbeitete Menge ccm	Verdünnung ccm	Extinktionskoeffizient	100 ccm Lösg. enthalten —NH_2.COOH mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
185	Sofort nach erfolgter Lösg.	0,5	100	1,6380	35,61	42,74	—
186	Nach 1 Std.	0,5	100	1,6825	36,57	43,89	1,15
187	„ 5 „	0,5	100	1,7325	37,66	45,19	2,46
188	„ 25 „	0,5	100	1,8900	41,08	49,30	6,56
189	„ 50 „	0,5	100	2,0510	44,56	53,47	10,74
190	„ 100 „	0,5	100	2,1550	46,84	56,21	13,47
191	„ 200 „	0,5	100	2,2435	48,77	58,53	15,47
192	„ 500 „	0,5	100	2,3300	50,65	60,78	17,25
193	„ 1000 „	0,5	100	1,8660	40,56	48,67	5,94

Die zugesetzten 100 mg Glykokoll verursachten also einen rapiden Anstieg der Hydrolyse, so daß hier besonders deutlich die Wirkung einer gesteigerten Glykokollmenge sichtbar ist. Auch ein Rückgang der Hydrolyse kann aus obigem ersehen werden.

Endlich sollte auch die Steigerung der Eiweißmenge geprüft werden, deshalb wurden 1000 mg Hühnereiweiß mit 100 mg Glykokoll in 100 ccm Wasser gelöst.

Tabelle XVIII.

1000 mg Hühnereiweiß + 100 mg Glykokoll in 100 ccm Wasser.

Nummer	Zeit der Untersuchung	Verarbeitete Menge ccm	Verdünnung ccm	Extinktionskoeffizient	100 ccm Lösg. enthalten —NH_2.COOH mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
194	Sofort nach erfolgter Lösg.	0,5	100	2,7165	59,05	70,86	—
195	Nach 1 Std.	0,5	100	2,8100	61.08	73,30	2,43
196	„ 5 „	0,5	100	3,4140	76,39	91,67	20,81
197	„ 25 „	0,5	100	3,5114	78,51	94,22	23,35
198	„ 50 „	0,5	100	3,6695	79,77	95,73	24,86
199	„ 100 „	0,5	100	3,6625	79,61	95,54	24,67
200	„ 200 „	0,5	100	3,7700	81,95	98,34	27,48
201	„ 300 „	0,5	100	3,5050	76,19	91,43	20,57
202	„ 400 „	0,5	100	3,5150	76,41	91,70	20,83
203	„ 1000 „	0,5	100	2,6080	56,69	68,03	—

Auch hier sieht man die bedeutende katalytische Wirkung des Glykokolls auf die Hydrolyse des Hühnereiweiß, und auch der Rückgang der Reaktion wird stark beschleunigt.

Um obige Versuchsserien der zeitlichen Prüfung der Hydrolyse übersichtlicher zu gestalten, wurde die nachfolgende Kurventafel zusammengestellt. (Siehe Kurve.)

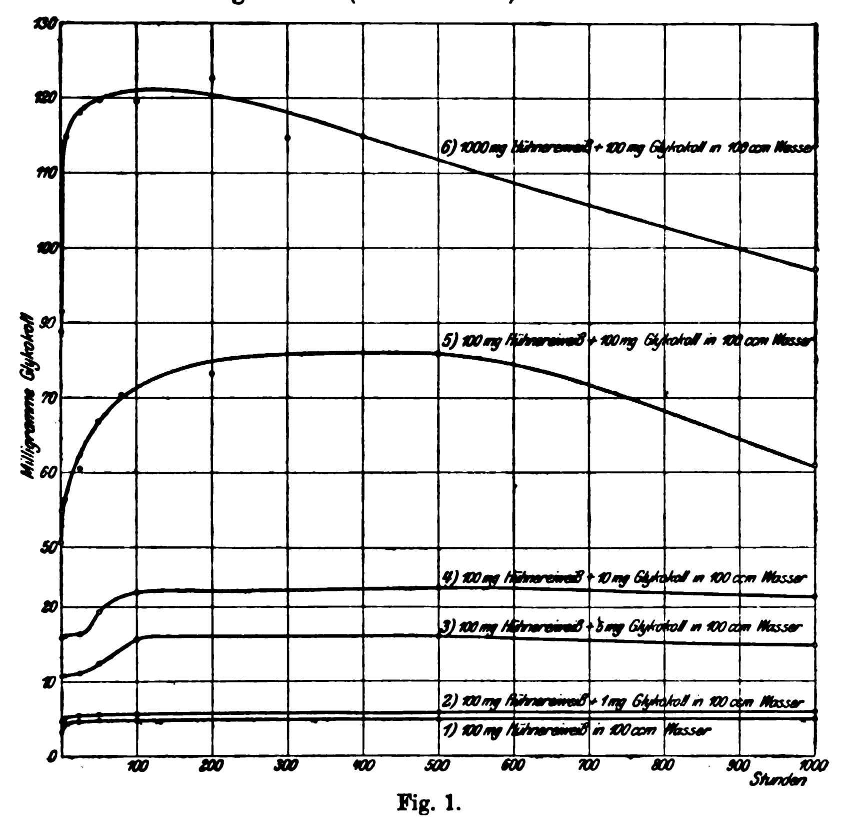


Fig. 1.

Die Kurventafel lehrt in allererster Linie, daß man zu einer Grenze der Hydrolyse kommt, und zwar wächst die Hydrolyse mit der zugesetzten Glykokollmenge. In zweiter Linie erkennt man, daß der Vorgang die Charakteristik einer Autokatalyse hat. Das heißt, die Zersetzung fängt langsam an und beschleunigt sich dann. Dies zeigen namentlich die Kurven 3 und 4, während die Kurven 5 und 6 dieses erste Stadium des Angehens der Zersetzung offenbar deswegen nicht mehr zeigen, weil es zu rasch abläuft.

Das Maximum der Hydrolyse ist offenbar als ein Gleichgewichtszustand anzusehen zwischen dem Albumin und seinen Hydrolysenprodukten.

Nun macht sich drittens nach längerer Zeit ein Rückgang der Hydrolyse bemerkbar, den man als Reversion ansehen muß. Das heißt, die Aminosäuren gehen ihrerseits wieder Kondensationen ein. Diese Reversion ist um so bedeutender, je weiter die Hydrolyse vorher vorgeschritten war. Offenbar ist es vornehmlich das zugesetzte Glykokoll, das mit den anderen aus dem Albumin stammenden Aminosäuren sich irgendwie zu Polypeptiden vereinigt. Jedenfalls hat man es nacheinander mit einer hydrolysierenden und synthetischen Wirkung des zugesetzten Katalyten zu tun.

Vergleicht man endlich die Kurven 1 und 2 mit den anderen, so erhält man den Eindruck, daß es einen gewissen Schwellenwert für die Ingangsetzung der Autokatalyse gibt. Dies ist wohl so zu deuten, daß erst, wenn andere Aminosäuren aus dem Albumin in Freiheit gesetzt werden, die Selbstbeschleunigung zur Geltung kommt, indem erst diesem Aminosäurengemisch die Eigenschaft der spezifischen Fermentwirkung zukommt.

Nach obigen Versuchen ist es erwiesen, daß Eiweißabbauprodukte Wirkungen ähnlich wie proteolytische Fermente ausüben können. Es soll aber hiermit keineswegs behauptet werden, daß bei den proteolytischen Fermenten bestimmte Eiweißabbauprodukte den einzigen wirksamen Bestandteil bilden, sondern es müssen noch andere Bestandteile und auch gewisse physikalisch-chemische Faktoren berücksichtigt werden. Ob nun Produkte des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels, ob gewisse anorganische Salze (namentlich Ca-Salze) hierbei eine entscheidende Rolle spielen, ist noch nicht genügend untersucht worden. Die Anwesenheit von Kolloiden bildet, wegen der Vergrößerung der Reaktionsoberfläche, eine wichtige physikalisch-chemische Bedingung, ebenso die Einhaltung bestimmter Temperaturen, wegen der Thermolabilität der Fermente.

In dieser Richtung hat Verfasser einige Versuche ausgeführt, welche vielleicht in die Frage der Thermolabilität etwas Licht bringen könnten. In den ersten Versuchen sollte zunächst entschieden werden, ob eine wässerige Lösung eines gut wirkenden Fermentpräparates, z. B. des Trypsins, durch Aufkochen der Lösung seine proteolytische Wirkung vollständig oder nur zum Teil verliert. Es wurden deshalb 100 mg Trypsin in

100 ccm Wasser gelöst, davon 10 ccm in ein geeichtes Reagensglas gebracht und 3 Minuten gekocht. Nach dem Abkühlen wurde wieder bis zur Marke 10 ccm genau aufgefüllt. 1 ccm der ungekochten und 1 ccm der gekochten Trypsinlösung wurden allein und dann mit je 100 mg Fibrin in geprüften Hülsen angesetzt. Es soll besonders hervorgehoben werden, daß die 100 mg Trypsin in 100 ccm Wasser sehr gut, opalescierend löslich waren, beim Kochen aber hat sich allmählich ein ziemlich derbflockiger Niederschlag abgeschieden, der kalkhaltig war und die Ninhydrinreaktion gab. Möglicherweise sind hier Kalksalze von Aminosäuren gefällt worden, oder anorganische Kalksalze, die dann Aminosäuren mitgerissen haben, oder aber sind kolloidale Körper zugegen, die beim Kochen koagulieren und hierbei Aminosäuren mitreißen. Wenn man bedenkt, daß die Fermentpräparate mit Calciumchlorid „aktiviert“ werden, so ist die Möglichkeit naheliegend, daß die Calciumsalze von Aminosäuren oder anderen Eiweißabbauprodukten einen wirksamen Teil des Fermentpräparates bilden können. Ist diese Annahme richtig, so kann eine Hitzeinaktivierung so gedacht werden, daß z. B. bei den Pepsinen die Kalksalze der Peptone, bei den Trypsinen aber die Kalksalze von Aminosäuren sich beim Kochen abscheiden und auf diese Weise außer Wirkung treten. Versetzt man ein Gemisch von mehreren Aminosäuren oder eine Peptonlösung mit Calciumchlorid und kocht einige Minuten, so schied sich nach einiger Zeit ein flockiger Niederschlag ab, der auch kalkhaltig war und mit Ninhydrin reagierende Körper enthielt.

Tabelle XIX.

Nummer	Versuch	Verdünnung	Extinktions-Koeffizient	100 ccm Lösg. enthalten $-NH_2 \cdot COOH$ mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
204	1 mg Trypsin in 1 ccm Wasser .	50	0,4925	10,71	12,86	—
205	1 „ „ „ 1 „ „ gekocht	20	0,0878	1,91	2,29	—
206	100 mg Fibrin + 1 mg Trypsin in 1 ccm Wasser	100	1,5840	34,43	41,32	28,46
207	100 mg Fibrin + 1 mg Trypsin in 1 ccm Wasser, gekocht .	20	0,2089	4,63	5,56	3,26

Obige Resultate sind Mittelwerte von je zwei Versuchen, wobei das erstemal 2 Minuten, das zweitemal 5 Minuten gekocht wurde; die so erhaltenen Werte zeigten keine wesentlichen Unterschiede. Es zeigte sich also, daß in einem wirksamen Trypsinpräparat ein auch beim Kochen beständiger Teil vorhanden ist, der eine entsprechende abbauende Fähigkeit besitzt. Daß auch andere Fermente thermostabil und wirksam sein können, ist aus der Arbeit von O. Durieux[1]) ersichtlich. Obiger Forscher hat gefunden, daß Filtrate von manchen Trockenhefeextrakten, selbst nach dem Kochen, noch ein bemerkenswertes Inversionsvermögen zeigten.

Die Ursache der Thermolabilität können auch andere Faktoren sein. Vergleicht man aus der Tabelle III die Versuche 28 bis 31, so sieht man das Pepsin und Trypsin sogar bei 37° C in einer 0,15%igen HCl- bzw. in 0,5%iger Na_2CO_3-Lösung von ihrer Wirksamkeit verlieren, wobei eine derartige Schwächung der Wirkung wahrscheinlich vom sauren bzw. alkalischen Medium verursacht wird. In der nächsten Versuchsserie sollte entschieden werden, ob in analoger Weise Peptone und Aminosäuren unter gleichen Bedingungen eine Abnahme der proteolytischen Wirkung zeigen.

Tabelle XX.

Nummer	Versuch	Verdünnung	Extinktions koeffizient	100 ccm Lösg. enthalten $-NH_2 . COOH$ mg	Umgerechnet auf Glykokoll mg	Abgebaut
208	1 mg Pepton a. Alb. in 1 ccm Wasser	50	0,8685	18,88	22,66	—
209	1 " " " " " 1 " " gekocht	50	0,6483	14,09	16,91	—
210	100 mg Albumin + 1 mg Pepton a. Alb. in 1 ccm Wasser . . .	50	1,2568	27,32	32,78	8,68
211	100 mg Albumin + 1 mg Pepton a. Alb. in 1 ccm Wasser, gekocht	50	0,9200	19,87	23,85	5,59
212	1 mg Pepton a. Alb. in 1 ccm 0,15% HCl	20	0,4000	8,37	10,05	—
213	1 mg Pepton a. Alb. in 1 ccm 0,15% HCl, gekocht	20	0,2530	5,29	6,35	—
214	100 mg Albumin + 1 mg Pepton a. Alb. in 1 ccm 0,15% HCl .	50	0,7855	16,49	19,79	9,20
215	100 mg Albumin + 1 mg Pepton a. Alb. in 1 ccm 0,15% HCl, gekocht	20	0,3020	6,34	7,61	1,26

[1]) Bull. Soc. Chim. Belge 28, 99 bis 101, 1914.

Durch Kochen der Peptone in wässeriger und salzsaurer Lösung verlieren diese von ihrer katalytischen Wirkung, mittels der sie die Eiweißhydrolysen beschleunigen.

Beim Kochen einer wässerigen Glykokollösung war, wie zu erwarten, im Vergleich mit der ungekochten Lösung keine merkbare Veränderung zu finden. Dagegen in einer 0,5 $^{0}/_{0}$ igen Na_2CO_3-Lösung konnte nach dem Kochen eine Abnahme der dialysierbaren, mit Ninhydrin reagierenden Stoffe und der katalytischen Wirksamkeit gefunden werden. Worauf diese Abnahme beruht, konnte noch nicht ermittelt werden, vielleicht kann an eine Bildung von Polypeptiden gedacht werden.

Tabelle XXI.

Nummer	Versuch	Verdünnung	Extinktions-koeffizient	100 mg Lösg. enthalten $-NH_2.COOH$ mg	Umgekehrt auf Glykokoll mg	Abgebaut
216	1 mg Glykokoll in 1 ccm 0,5 $^{0}/_{0}$ Na_2CO_3	50	0,7977	17,55	21,06	—
217	1 mg Glykokoll in 1 ccm 0,5 $^{0}/_{0}$ Na_2CO_3, gekocht	50	0,2872	6,32	7,58	—
218	100 mg Fibrin + 1 mg Glykokoll in 1 ccm 0,5 $^{0}/_{0}$ Na_2CO_3	100	0,9235	20,10	24,12	3,06
219	100 mg Fibrin + 1 mg Glykokoll in 1 ccm 0,5 $^{0}/_{0}$ Na_2CO_3, gekocht	50	0,3022	6,65	7,98	0,40

Es zeigte sich also, daß durch Kochen von Glykokoll in 0,5 $^{0}/_{0}$ iger Na_2CO_3-Lösung dasselbe Veränderungen erleidet, die seine abbauenden Fähigkeiten vermindern. In dieser Beziehung scheint also das Verhalten des Trypsins und des Glykokolls analog zu sein.

Alle bisher beschriebenen Versuche sprechen dafür, daß bei den proteolytischen Fermenten den wirksamen Bestandteil die entsprechenden Eiweißabbauprodukte bilden. Daß auch derartige einfache Körper fermentative Eigenschaften haben können, haben Euler und Bolin gezeigt, indem sie nachweisen konnten, daß die Laccase aus den Calciumsalzen von aliphatischen Oxysäuren besteht.

Beim Studium der proteolytischen Wirkung von Eiweißabbauprodukten konnte eine Art von Spezifität nachgewiesen

werden, d. h. es beschleunigten die Hydrolyse der Eiweißkörper nur die aus ihnen stammenden Peptone. Die Spaltung der Eiweißkörper war um so intensiver, je mehr von den Abbauprodukten dieselbe katalysierte. So haben steigende Mengen von Glykokoll die Hydrolyse des Albumins entsprechend beschleunigt, jedoch nur bis zu einer Grenze geführt, an der dann eine Synthese der Abbauprodukte erfolgte. Somit können die abbauenden Faktoren unter geeigneten Bedingungen auch synthetische Wirkungen entfalten. Derartige Beobachtungen liegen auch vor; nach Croft Hill soll die Maltase aus Glucose ein Disaccharid bilden können, ferner zeigten Kastle und Loevenhardt, daß Pankreaslipase die Bildung von Äthylbutyrat aus Buttersäure und Äthylalkohol bewirkt.

Die Tatsache, daß schon geringe Mengen von Peptonen und Aminosäuren verhältnismäßig große Mengen von Eiweißkörpern abzubauen vermögen, spricht auch für den fermentativen Charakter dieser Körper. Endlich konnte auch unter bestimmten Bedingungen eine Thermolabilität dieser Körper nachgewiesen werden. Man kann daher unter proteolytischen Fermenten Eiweißabbauprodukte verstehen, die unter günstigen physikalischen und chemischen Bedingungen (Reaktion, Konzentration, Anwesenheit von Salzen, Kolloiden, Temperatur usw.) die Spaltung der Eiweißkörper beschleunigen und bis zu jener Grenze führen, an der sie sich selbst befinden.

Versucht man obige Annahme auch für andere Fermente anzuwenden, so mögen zunächst folgende Angaben berücksichtigt werden. Otha stellte in Neubergs Laboratorium ein äußerst aktives Emulsin dar, das eiweißfrei war und weder die Biuretreaktion noch die Ninhydrinreaktion gab. Ebenso konnte Fränkel zu Invertasepräparaten gelangen, die frei von Eiweiß und Eiweißabbauprodukten waren. Bemerkenswert sind die Angaben von Euler und Cramer, die nachweisen konnten, daß bei Vorbehandlung von Hefe mit Glucose Invertasebildung erzeugt wurde. Es war also denkbar, daß bei den kohlenhydratspaltenden Fermenten nach obiger Analogie Kohlenhydratabbauprodukte eine Rolle spielen könnten. Verfasser konnte nachweisen, daß einige gut wirkende Maltasepräparate viel mehr einer alkalischen Methylenblaulösung entfärben konnten, als andere minderwertige Präparate.

Sollte die Annahme, daß bei den Fermenten das entsprechende Abbauprodukt der wirksame Faktor ist, auch für andere Fermente nachweisbar sein, so könnte man die Fermente im allgemeinen als Abbauprodukte ansehen, die unter günstigen physikalischen und chemischen Bedingungen die Hydrolyse und Synthese der entsprechenden Körper beschleunigen, und in jene Stufe leiten können, an der sie sich selbst befinden.

Zum Schluß sei mir gestattet, Herrn Prof. Dr. E. Baur für das rege Interesse und für die zahlreichen, wertvollen Ratschläge meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Über das Pepton. II.

Von

Alessandro Bernardi und Emma Fabris.

(Aus dem Institut für pharmazeutische und toxikologische Chemie der Universität Bologna.)

(Eingegangen am 22. November 1914.)

Wie schon in einer früheren Arbeit[1]) ausgeführt, erhält man aus wässeriger Peptonlösung[2]) durch Behandlung mit in Wasser gelöstem Kupferhydrat eine Flüssigkeit von dunkelblauer Färbung und einen in Wasser unlöslichen Rückstand. Besagte im Wasserbad weitgehend konzentrierte Flüssigkeit, die in dünnem Strahl in absoluten Alkohol gegossen wird, fällt eine pulverige, amorphe, blaue, in Wasser sehr lösliche Substanz aus, die rasch unter der Luftpumpe abgesaugt und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet wird.

Auf Grund der Analyse entspricht ihre Struktur folgender Formel:

$$C_{51}H_{92}N_{14}O_{24}SCu.$$

Die wässerige Lösung dieser Substanz wird behufs Ausscheidung des Kupfers mit Schwefelwasserstoffgas behandelt und verwandelt sich in ein amorphes Produkt von dieser Formel:

$$C_{51}H_{94}N_{14}O_{24}S.$$

Durch Fortsetzung der Untersuchungen über das in Wasser unlösliche Produkt ist es möglich gewesen, zwei weitere Proteinderivate zu isolieren, die sich sowohl von einander als von dem Pepton Witte unterscheiden, von dem sie abstammen. Es sind die folgenden:

---

[1]) A. Bernardi, diese Zeitschr. 60, 56, 1914.

[2]) Witte-Pepton.

$C_{51}H_{94}N_{14}O_{24}S$ = leicht gelblich, amorph, löst sich leicht in kaltem Wasser, wobei zitronengelbe Färbung auftritt. Diese wässerige Lösung, von neutraler Reaktion, gibt mit konzentrierter Salpetersäure oder mit Chlornatrium und Ferrocyankaliumlösung in Gegenwart von Essigsäure weder Fällung noch Trübung. Fällt nicht aus, wenn Ammonsulfatlösung von 20% zugefügt wird, wohl aber, wenn die Lösung mit diesem Salze in Substanz gesättigt ist.

$C_{67}H_{127}N_{19}O_{37}S_2$ = gelb-braune, amorphe, in kaltem Wasser dem sie Säurereaktion und dunkelgelbe Färbung verleiht, ziemlich lösliche Substanz. Biuretreaktion fällt negativ aus. Aus ihrer wässerigen Lösung wird sie bei Hinzufügung von Ammonsulfatlösung von 20% ausgefällt.

$C_{44}H_{83}N_{11}O_{24}S$ = leicht gelbliche, amorphe, in kaltem Wasser sich dunkler färbende, sehr lösliche Substanz. Die Lösung reagiert sehr schwach alkalisch. Diese Lösung gleicht in ihrem gesamten Verhalten der ersten.

Experimenteller Teil.

Wie schon erwähnt, erhält man durch die Behandlung von wässeriger Lösung des Pepton Witte mit in Wasser schwebendem Kupferhydrat außer einer Lösung von schöner blauer Färbung auch eine schmutziggelbe, in Wasser unlösliche Fällung. Diese wurde auf dem Filter gesammelt und mit heißem, destilliertem Wasser gewaschen, bis die Waschwässer keine Kupferreaktion mehr gaben. Sie löste sich in sehr stark verdünntem Ammoniumhydrat und färbt sich blau. Die kochende Lösung wurde behufs Fällung des Kupfers mit Schwefelwasserstoffgas gesättigt. Man erhielt so eine Flüssigkeit, die auf dem Wasserbad bis zur Trockenheit verdunstete und einen zum Teil in Wasser unlöslichen (Schwefel), zum Teil gelb-braunen, klaren löslichen Rückstand hinterließ. Wurde diese wässerige Lösung mit Natriumchlorid gesättigt, so trübte sie sich und schied nach längerem Stehen eine pulverige Substanz aus. Die Ausscheidung wurde durch Zusatz von etwas sehr verdünnter Salz- oder Essigsäure beschleunigt. Rascher noch wirken Magnesiumsulfat oder Natriumacetat, und man salzt vorzugsweise mit letzterem aus, da es in Alkohol ziemlich löslich ist. Wenn das der Lösung zugefügte Natriumacetat die Kon-

zentration von 21 $^0/_0$ erreichte, schied sich in geringer Menge eine gelbliche, pulverige Substanz aus. Ein weiterer Zusatz von Natriumacetat bis zur Sättigung bewirkte kein neues Präcipitat, sondern beschleunigte nur die Fällung des erstgenannten.

Diese pulverige Substanz löst sich nur teilweise in Wasser und hinterläßt einen spärlichen, weißlichen Rückstand.

Sie ergibt eine klare, gelbliche Lösung, die sich auf dem Wasserbad bis zu ziemlich dicker Konsistenz konzentriert. Gießt man sie in dünnem Strahl in absoluten Alkohol unter kräftigem Schütteln, so wird eine braungelbe, pulverige, in Wasser ziemlich lösliche Substanz ausgefällt.

Dieser Proteinstoff wird, wenn auch in sehr verdünnter Lösung, aus dieser wässerigen Lösung gefällt und zwar mittels Phosphorwolframsäure, Quecksilberchlorid, Ammoniumsulfat, während er unter den gleichen Verdünnungsbedingungen mittels Ferrichlorid, Magnesiumsulfat und Essigsäure keine Fällung ergibt.

Zu den Reagenzien für Albumosen und Pepton verhält er sich anders als das ursprünglich verwendete Witte-Pepton.

Das geht aus der folgenden Übersichtstabelle hervor:

<table>
<tr><th rowspan="2"></th><th colspan="2">Reaktionen von wässeriger Lösung des</th></tr>
<tr><th>Witte-Pepton</th><th>Proteinderivats</th></tr>
<tr><td>Biuretreaktion</td><td>Positiv</td><td>Negativ</td></tr>
<tr><td>Millons Reaktion</td><td>Positiv</td><td>Positiv</td></tr>
<tr><td>Mit konz. Salpetersäure</td><td>Die Lösung trübt sich, die Trübung verschwindet bei einem Überschuß der Säure wieder, Xanthoproteinreaktion positiv</td><td>Die Lösung trübt sich, die Trübung verschwindet bei einem Überschuß der Säure wieder, Xanthoproteinreaktion positiv</td></tr>
<tr><td>Mit Essigsäure und Ferrocyankaliumlösung</td><td>Starke Trübung, die bei Erwärmung schwindet</td><td rowspan="2">Trübt sich schon bei Hinzufügung von Essigsäure</td></tr>
<tr><td>Mit Essigsäure und konz. Chlornatriumlösung</td><td>Die Lösung trübt sich, wird bei Erwärmen nicht ganz klar</td></tr>
</table>

Durch wiederholte Fällungen in absolutem Alkohol gereinigt und analysiert, ergaben sich die folgenden Resultate:

Angewandte Substanz g	CO_2 g	C gefunden %	H_2O g	H gefunden %	N	N gefunden %	$BaSO_4$ g	S gefunden %
0,1132	—	—	—	—	14 ccm (19°, 757 mm)	14,56	—	—
0,1169	—	—	—	—	15,5 ccm (22°, 758,5 mm)	14,98	—	—
0,1197	0,1886	42,97	0,0717	6,65	—	—	—	—
0,1213	—	—	—	—	—	—	0,0334	3,42
		Mittel 42,97		Mittel 6,65		Mittel 14,77		Mittel 3,42

Diese Resultate führen zu einer sehr komplizierten Formel:

$$C_{67}H_{127}N_{19}O_{37}S_2 = 1853 \text{ Mol.-Gew.}$$

% Gefunden:	% Berechnet:
C 42,97	C 43,38
H 6,65	H 6,85
N 14,77	N 14,35
S 3,42	S 3,45

Nachdem so durch Aussalzung die Substanz ausgeschieden war, schied die rückständige Lösung, wenn mittels Wasserbad entsprechend konzentriert und sich selbst überlassen, das hinzugefügte Natriumacetat ab. Nach dieser Ausscheidung wurde die zurückbleibende, von neuem konzentrierte Flüssigkeit wiederholt unter kräftigem Schütteln in absoluten Alkohol gegossen, bis es gelang, die ganze Substanz vollständig von dem Natriumacetat zu isolieren.

Man erhielt auf diese Weise einen gänzlich aschefreien, in kaltem Wasser löslichen Proteinkörper mit sehr schwach alkalischer Reaktion. Seine wässerige Lösung ergab Fällung mit wässeriger Pikrinsäure- oder Platinchlorwasserstoffsäurelösung, ferner mit Phosphormolybdänsäure, wobei das Präcipitat reichlich ist und sich am Licht rasch verändert. Ebenso entstand Fällung mit Essigsäure, deren Überschuß die Fällung aufs neue löst, worauf diese sich bei Ruhe ablagert. Weitere Fällung erfolgt mit Zinksulfat- oder Salzsäurelösung, die im Überschuß die Fällung zum Teil wieder löst.

Zu den reagensfreien Albumosen und Pepton verhält sie sich anders als das ursprünglich verwendete Witte-Pepton.

Das geht aus der folgenden Übersichtstabelle hervor:

	Reaktionen von wässeriger Lösung des Witte-Peptons	Reaktionen von wässeriger Lösung des Proteinderivats
Biuretreaktion	Positiv	Positiv
Millons Reaktion	Positiv	Positiv
Mit konz. Salpetersäure	Die Lösung trübt sich, die Trübung verschwindet bei einem Überschuß der Säure wieder, Xanthoproteinreaktion positiv	Keine Trübung Xanthoproteinreaktion positiv
Mit Essigsäure und Ferrocyankaliumlösung	Starke Trübung, die bei Erwärmung schwindet	Keine Trübung
Mit Essigsäure und konz. Chlornatriumlösung	Die Lösung trübt sich, wird bei Erwärmen nicht ganz klar	Keine Trübung

Die Analyse ergab folgende Resultate:

Angewandte Substanz g	CO_2 g	C gefunden %	H_2O g	H gefunden %	N	N gefunden %	$BaSO_4$ g	S gefunden %
0,1049	—	—	—	—	11,6 ccm, (9,5°, 751 mm)	13,11	—	—
0,3240	0,5394	44,98	—	—	—	—	—	—
0,2084	—	—	—	—	23,1 ccm, (11°, 750,7 mm)	13,05	—	—
0,2917	—	—	—	—	—	—	0,0602	2,84
0,1476	0,2446	45,19	0,0942	7,10	—	—	—	—
0,1314	—	—	—	—	—	—	0,0236	2,16
		Mittel 45,09		Mittel 7,10		Mittel 13,08		Mittel 2,65

Als Mittel der gefundenen Mengen erhält man eine sehr komplizierte Formel:

$$C_{44}H_{83}N_{11}O_{24}S = 1181 \text{ Mol.-Gew.},$$

deren Zusammensetzung den oben angegebenen analytischen Ergebnissen sehr genau entspricht:

% Gefunden:	% Berechnet:
C 45,09	C 44,71
H 7,10	H 7,03
N 13,08	N 13,04
S 2,65	S 2,71

Über das Pepton. III.

Von

Alessandro Bernardi und Emma Fabris.

(Aus dem Institut für pharmazeutische und toxikologische Chemie der Universität Bologna.)

(Eingegangen am 22. November 1914.)

In einer früheren Arbeit ist schon ein vom Pepton-Witte abgeleiteter Proteinstoff eingehend besprochen worden[1]), dem folgende Formel beigelegt wurde:

$$C_{51}H_{94}N_{14}O_{24}S.$$

Um diese Substanz zu identifizieren, wurde versucht, eine verhältnismäßig einfache Spaltungsmethode aufzufinden, d. h. bei dieser Zersetzung ein Produkt zu isolieren und dessen Eigenart festzustellen. Es wird vielleicht von Interesse sein, die Resultate einer teilweisen und vollständigen Untersuchung der Zersetzungsprodukte zu veröffentlichen, wie sie mit nachfolgend beschriebener Methode erhalten worden sind. Ich erhielt dabei ein Kupfersalz, das in sehr schönen blauen Nadelbüscheln krystallisiert, und dem folgende Formel zukommt:

$$C_{14}H_{29}N_{8}O_{20}Cu_{3}.$$

Eine 10%ige wässerige Lösung besagten Proteinstoffes ($C_{51}H_{94}N_{14}O_{24}S$) wurde bei einer Temperatur von 0° mit gasförmiger Salzsäure gesättigt. Die klare, gelbe Lösung nahm erst eine rötliche Färbung an, die hierauf ins Dunkelviolette überging. Auf dem Wasserbade wurde die Lösung bis zu möglichst vollständiger Ausscheidung der Salzsäure konzentriert.

---

[1]) A. Bernardi, diese Zeitschr. 60, 56, 1914.

In der Ruhe wird ein anorganischer Stoff gefällt, der nicht weiter studiert worden ist.

Die rückständige Flüssigkeit wurde am Rückflußkühler mit Äther behandelt, der derselben eine geringe Quantität einer Substanz entzog, die ihn leicht gelb färbte. Der bei Verdunstung dieser ätherischen Flüssigkeit gewonnene Rückstand ist ölig und reagiert sauer. Doch gestattet seine geringe Menge keine weitere Untersuchung.

Nach der Ätherbehandlung extrahierte man die Flüssigkeit wiederholt mit Aceton. Es bleibt ein reichlicher, pechartiger Rückstand.

Das Aceton wurde bis auf ein kleines Volumen abdestilliert und dann auf dem Wasserbade getrocknet. Der Rückstand löste sich nur teilweise im Wasser.

Zu der wässerigen Lösung, von rein saurer Reaktion, wurde frisch hergestelltes Kupferhydrat hinzugefügt; zuerst kalt, dann warm bis zum Auftreten von alkalischer Reaktion behandelt, wodurch eine klare blaue Flüssigkeit erhalten wurde.

Diese Lösung schüttelte man wiederholt mit Amylalkohol, bis die blaue Färbung verschwand. Inzwischen schied sich in der blauen Flüssigkeit eine krystallisierte Substanz in schönen blauen Nadelbüscheln aus. Dieselbe ist noch leichter erhältlich, wenn man die auf dem Wasserbade konzentrierte wässerige Lösung mit Aceton, bis starke Trübung eintritt, behandelt und dann sich selbst überläßt [1]).

Diese Substanz beginnt sich bei 200° zu zersetzen, bei 211° schmilzt sie und wird dabei vollkommen gespalten. Löst sich wenig in kaltem, besser in warmem Wasser.

Das analysierte Produkt ist wiederholt aus Wasser umkrystallisiert worden:

I. 0,1066 g	Substanz	ergaben	5 ccm N (18° 755,5 mm)	$^0/_0$ N	5,92
II. 0,1064 g	"	"	0,0194 g Cu	$^0/_0$ Cu	18,22
III. 0,1215 g	"	"	0,0477 g H_2O	$^0/_0$ H	4,36
		und	0,1091 g CO_2	$^0/_0$ C	24,48

Auf Grund der Ergebnisse können wir die Formel aufstellen:

$$C_{14}H_{29}N_8O_{20}Cu_2.$$

[1]) Ist die Flüssigkeit nicht genügend konzentriert, so scheidet sich das Produkt auch nicht mittels des Acetons aus.

	Gefunden in %:		Berechnet in %:	
I.	N	5,92	N	6,13
II.	Cu	18,22	Cu	18,39
III.	C	24,48	C	24,52
	H	4,36	H	4,23

Obgleich die obige Formel gelegentlich modifiziert werden mag (da nicht auszuschließen ist, daß das Salz Krystallwasser enthält), kann man doch ohne weiteres feststellen, daß es sich um das Kupfersalz einer Aminopolycarbonsäure handelt.

Die Versuche hierüber werden fortgesetzt werden.

Über das Schicksal des Papaverins im tierischen Organismus.

Von

Kurt Zahn.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 23. November 1914.)

Die bisherigen Erfahrungen über die Schicksale der Alkaloide im tierischen Normalorganismus, also ohne etwaige Gewöhnung, zeigen zwei Typen; entweder Totalausscheidung des unveränderten Alkaloids durch Darm oder Nieren (z. B. Morphin[1]), Strychnin), oder eine partielle Ausscheidung (z. B. Chinin, Atropin, Cocain). Das Papaverin, über dessen Schicksal die nachfolgenden Zeilen berichten sollen, zeigt eine weitere Möglichkeit.

Dieses Alkaloid ist in den letzten Jahren zu einer gewissen Bedeutung gelangt, und alle Zeichen sprechen dafür, daß es sich alsbald einer weitgehenden klinischen Verwendung erfreuen wird. Von neuen klinischen Tatsachen, die in dieser Richtung bekannt geworden sind, sei zuerst der vielfachen Beobachtungen von Pal[2]) gedacht, sodann des Berichtes von Holzknecht und Sgalitzer[3]), die das Papaverin zur röntgenologischen Differentialdiagnose zwischen Pylorospasmus und Pylorusstenose verwenden, dann der Angaben von Reach[4]), der die Ductus-choledochus-Erschlaffung nach Papaverin feststellt. Gelegentlich wurde ferner von Pohl in nicht veröffent-

---

[1]) Notiz bei der Korrektur (6. II. 1915): Obige Gruppierung nahm ich noch vor Erscheinen der Arbeit A. Valentis (Arch. di farmacologia sperim. XVII, fasc. VI), der die Verläßlichkeit der Tauberschen Morphinbestimmungsmethode in quantitativer Richtung völlig bestreitet, an. Meine persönlichen analytischen Erfahrungen bestätigen die Angaben Valentis und hiernach gehört das Morphin ebenfalls zu den nur partiell zur Ausscheidung gelangenden, schon vom normalen Organismus teilweise zerstörbaren Alkaloiden.

[2]) J. Pal, Das Papaverin als Gefäßmittel und Anaestheticum. Deutsche med. Wochenschr. **1914**, 164.

[3]) Münch. med. Wochenschr. **1913**, 1989.

[4]) Wiener klin. Wochenschr. **4**, 1914.

lichten Versuchen gleichzeitig mit Pal beobachtet, daß das Papaverin eine außerordentlich erschlaffende Wirkung auf den Uterus ausübt. Hierher gehören noch die hierdurch verständlichen Erfahrungen Halbans[1]) mit Papaverin als Antiabortivum.

Da es nun nicht unwahrscheinlich ist, daß die vielfache praktische Verwendung von Papaverin von forensischer Bedeutung werden wird, habe ich Versuche über das Schicksal desselben angestellt, Versuche, die auch von allgemein biologischen Gesichtspunkten aus notwendig waren.

Die bisher in der Literatur vorliegenden Angaben in dieser Richtung reichen weit zurück und sind methodisch unverläßlich. Es liegt meines Wissens bisher hierüber nur eine Arbeit vor, und zwar von Schmemann: „Beiträge zum gerichtlich chemischen Nachweis von Codein, Thebain, Papaverin, Narcein". Dissertation 1870, Dorpat. Nach dieser Arbeit ist das Papaverin bei subcutaner und oraler Darreichung in den meisten Organen wiederzufinden. Den Nachweis des Papaverins führt Schmemann in dieser Arbeit in den Äther- bzw. Chloroformausschüttelungen der Organteile nur mit allgemeinen Alkaloidfällungsreagenzien, hauptsächlich mit Jodjodkalium, Kaliumwismutjodid und Phosphormolybdänsäure; ferner verwendet Schmemann noch das Fröhdesche Reagens zur Farbenreaktion, die, wie er selbst angibt, beim Papaverinnachweis in den Organextrakten mitunter mit anderer Farbentönung begonnen hat, als sie dem Papaverin zukommt. Trotzdem wird die Reaktion von Schmemann als positv verlaufend angesehen und mit Hilfe dieser Reaktion im Verein mit dem positiven Verlauf der allgemeinen Alkaloidfällungsreaktionen der Beweis für die Anwesenheit gerade des Papaverins als erbracht angenommen.

Es schien nun, um zu sichereren Anhaltspunkten über das Schicksal des Papaverins im tierischen Organismus zu gelangen, geboten, diese Versuche hierüber nach einer Methode durchzuführen, die es ermöglichte, in den Organen zurückgehaltenes Papaverin oder Umwandlungsprodukte desselben in möglichst reiner Form zu isolieren, eventuell zur Wägung zu bringen und neben den allgemeinen Alkaloidfällungs- und Farbenreaktionen auch noch durch etwas Charakteristisches, also etwa durch Schmelzpunktbestimmung, zu identifizieren.

---

[1]) Österr. Ärztezeitung 1914, 97 (nach einem Referat).

Der zunächst folgende Teil meiner Arbeit beschäftigt sich in der Hauptsache mit Berichten über Versuche, Papaverin, das frischen Organteilen bzw. Bestandteilen aus denselben zugesetzt ist, nach verschiedenartiger Digestion mit diesen bei Körpertemperatur in der dann noch vorhandenen Menge zu isolieren und zu identifizieren, sowie ferner mit Versuchen, Kaninchen, Katzen und Hunden subcutan bzw. oral dargereichtes Papaverin in den Ausscheidungsprodukten bzw. in den einzelnen Organen der Tiere wiederzufinden und zu identifizieren (Teil I). Ferner wurde noch die Auffindung von Spaltungs- und Umwandlungsprodukten des Papaverins berücksichtigt, sodann wurden auch Untersuchungen über Veränderungen in der Beschaffenheit der Ausscheidungsprodukte nach Papaverindarreichung durchgeführt (Teil II). Zum Schluß (Teil III) wird noch einiges über toxische Papaverinwirkung und toxische und letale Dosen des Papaverins berichtet werden.

I.

A. Methode der Wiedergewinnung des Papaverins.

a) Aus wässeriger Lösung.

Papaverinum mur.[1]) ist in Wasser hinreichend löslich. Eine 2%ige Lösung bleibt lange Zeit unverändert. Aus einer solchen Lösung ist das Papaverin durch Ammoniak als Base in schneeweißen Krystallen, nach meinen Versuchen in mäßiger Konzentration fast quantitativ ausfällbar. Auf Zusatz von Ammoniak trübt sich zunächst die Lösung von Papaver. mur., nach einiger Zeit beginnt das Papaverin sich krystallinisch abzuscheiden. Großer Ammoniaküberschuß muß vermieden werden, da sich erfahrungsgemäß das ausgefällte Papaverin in einem solchen wieder auflöst. Beispiel für diese Methode:

Ich löste je 0,1 g Papaver. mur. in

a) 25 ccm Wasser | b) 100 ccm Wasser | c) 200 ccm Wasser
d) 400 ccm Wasser.

---

[1]) Für meine Versuche ist mir von der Firma Hoffmann, La Roche & Co., Grenzach, ein größeres Quantum dieses Alkaloids in freundlichster Weise zur Verfügung gestellt worden. Das Präparat gab mit konz. H_2SO_4 keine Kryptopinreaktion im Gegensatz zu Präparaten anderen Ursprungs.

Nach dem Fällen mit Ammoniak in obenerwähnter Weise wurden durch Wägung zurückerhalten:

a) 0,0906 Papaverin als Base = 0,0997 Papaver. mur.
b) 0,0880 " " " = 0,0968 " "
c) 0,0874 " " " = 0,0961 " "
d) 0,0824 " " " = 0,0906 " "

Nachdem diese Resultate befriedigten, versuchte ich diese Methode nun für Organe anzuwenden.

b) Aus Organteilen.

Wässerige Organextrakte geben nach meinen Erfahrungen nach der Filtration an sich schon mit Ammoniak größtenteils nicht unbeträchtliche Fällungen. Diese störenden Stoffe müssen also erst aus den Organteilen beseitigt werden.

Unter Berücksichtigung der Beobachtung, daß Papaverin außer in salzsaurem Wasser noch in saurem und ammoniakalischem Alkohol leicht löslich ist, während die mit Ammoniak aus wässerigen Organextrakten fällbaren Bestandteile, nach meinen Feststellungen auch aus den alkoholischen Organextrakten durch Ammoniakzusatz völlig abgeschieden werden, verfuhr ich folgendermaßen bei der Isolierung des Papaverins aus Organteilen:

Die festen Organteile wurden zu einem dünnen Brei zerrieben, dieser mit salzsaurem Wasser etwas verdünnt, unter ständigem Umrühren mit etwa der 3 bis 4 fachen Menge Alkohol versetzt, zum Schluß ammoniakalisch gemacht, geschüttelt, einen Tag zum Absetzen des entstandenen Niederschlages sich selbst überlassen, filtriert, der Rückstand mit ammoniakalischem Alkohol gut nachgewaschen, das Filtrat nach dem Ansäuern mit Salzsäure durch Destillation und Abdampfen auf dem Wasserbade vom Alkohol befreit, dieser Rückstand fast zur Trockne eingedampft, dann mit kochendem Wasser aufgenommen, filtriert, der auf dem Filter zurückgebliebene Rückstand noch einige Male mit heißem Wasser ausgezogen diese Auszüge jedesmal wieder filtriert, alle diese gesammelten Filtrate vereinigt, meist auf 30 bis 50 ccm auf dem Wasserbade eingeengt, diese eingeengte Flüssigkeit, wenn nötig, nochmals filtriert und aus diesem sauren Endfiltrat durch Versetzen mit Ammoniak bis zur schwach alkalischen Reaktion das Papa-

verin als Base abgeschieden. Zu viel Ammoniakzusatz ist auch hier aus dem unter a) angegebenen Grunde zu vermeiden. Am zweckmäßigsten verfährt man bei der Ammoniakfällung in der Weise, daß man das erwähnte saure Endfiltrat erst neutralisiert und dann noch einige wenige, vielleicht 3 bis 4 Tropfen Ammoniak hinzusetzt, so daß die Flüssigkeit eben schwach nach Ammoniak riecht. Bei diesem Versetzen mit Ammoniak trübt sich die das Papaverin enthaltende Flüssigkeit erst milchig, und nach einiger Zeit beginnt die krystallinische Abscheidung des Papaverins. Dieselbe ist je nach der Konzentration der Lösung meistens in 1 bis 4 Tagen beendigt und kann dann abfiltriert werden. Handelt es sich um die Anwesenheit minimaler Papaverinmengen, etwa nur um Milligramme, so trübt sich das saure Endfiltrat beim Versetzen mit Ammoniak überhaupt nicht oder ganz vorübergehend, die Lösung wird sofort wieder klar, und erst nach etwa einem Tage beginnt die Papaverinabscheidung in feinen Krystallnädelchen. Das durch diese Ammoniakfällung gewonnene Papaverin war häufig sogar schon ziemlich rein und schmolz bei 147°, dem Schmelzpunkt des reinen Papaverins. War der Schmelzpunkt noch nicht ganz scharf, so genügte schon ein einmaliges Umkrystallisieren aus heißem verdünnten Alkohol.

Ich erhielt nach dieser Methode u. a. folgende Resultate:

	a	b	c	d
	zugesetzt	wiedergefunden		in
	Papav. mur. g	Papav. pur. g	Papav. mur. g	%
Katzenharn	0,05	0,042	0,046	92
Hundeharn	0,05	0,043	0,047	94
Kaninchenharn	0,05	0,042	0,046	92
Hundefäkalien	0,05	0,041	0,045	90
Niere (zermahlen)	0,1	0,084	0,092	92
Gehirn "	0,1	0,085	0,094	94
Pankreas "	0,1	0,087	0,096	96

Da das gründliche Auswaschen der Filterrückstände der ammoniakalisch-alkoholischen Organextrakte bei einzelnen Organen reichlich Zeit und Material in Anspruch nahm, brachte ich in einer anderen Versuchsreihe solche Organextrakte auf ein bestimmtes Volumen, filtrierte hiervon einen aliquoten Teil ab, bestimmte darin nach obiger Methode den Papaveringehalt

und berechnete denselben dann für die Gesamtmenge. Ich erhielt auf diese Weise Resultate, die mit den obigen gut übereinstimmten, und benutzte daher bei meinen Versuchen mit Organteilen meist die letztere Methode.

Auf Grund dieser Erfahrungen ging ich nun an die Versuche am lebenden Tier, und zwar führte ich dieselben sowohl mit Organen, die frisch getöteten Tieren entstammten, als auch am lebenden Tier selbst durch subcutane und orale Darreichung aus. Das Ziel der in diesen beiden Teilen folgenden Versuche war zunächst die Wiedergewinnung des Papaverins selbst.

B. Digestions- bzw. Schüttelversuche einzelner Organe bzw. Organbestandteile mit Papaverin extra corpus.

1. Versuch extra corpus (mit Hundeorganen).

Einem Hunde, der einige Stunden vorher zugrunde gegangen war, wird die **Leber** entnommen. Reaktion derselben neutral. Sie wird zermahlen und in zwei Teile geteilt: a) und b).

a) + Wasser + 0,2 g Papaver. mur. (in Lösung) + Toluol, $3^1/_2$ Stunden im Schüttelapparat bei 38 bis 42° geschüttelt, dann + Alkohol + Ammoniak ad 380 ccm, geschüttelt, am nächsten Tage hiervon 260 ccm abfiltriert. Hieraus nach beschriebener Methode isoliert:

0,108 g Papaverin als Base
= 0,158 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,174 g " mur. in der Gesamtmenge = 87 %.

b) Kontrollversuch: Leberbrei vorher zum Sieden erhitzt, nachher genau behandelt wie a). Nach dem Schütteln + Alkohol + Ammoniak ad 430 ccm. Hiervon abfiltriert 380 ccm, hieraus isoliert;

0,1438 g Papaverin als Base
= 0,163 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,179 g " mur. in der Gesamtmenge = 89,5 %.

2. Versuch extra corpus (mit Hundeorganen).

Ein durch Impfung erkrankter Hund wird getötet. Es wird ihm sofort die **Leber** entnommen. Dieselbe wird präpariert wie im vorigen Versuch. Sie wird in zwei Teile a) und b) zu je 80 g geteilt.

a) + Wasser + 0,25 g Papaver. mur. + Toluol, 4 Stunden im Schüttelapparat bei 38 bis 41° geschüttelt. Produkt 220 ccm, + Alkohol + Ammoniak ad 1000 ccm. Hiervon abfiltriert 800 ccm, hieraus isoliert:

0,169 g Papaverin als Base
= 0,211 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,232 g " mur.' in der Gesamtmenge = 92,8%.

b) erst aufgekocht, dann genau behandelt wie a). Produkt 250 ccm + Alkohol + Ammoniak ad 1000 ccm, hiervon abfiltriert 800 ccm. Hieraus isoliert:

0,1568 g Papaverin als Base
= 0,196 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,216 " mur. in der Gesamtmenge = 86%.

3. Versuch extra corpus (mit Hundeorganen).

Einem Hunde werden sofort nach dem Tode Leber, Niere und Pankreas entnommen, sofort zermahlen, in zwei Teile geteilt und nach obiger Methode verarbeitet.

a) Leber fein zermahlen + 0,2 g Papaver. mur. + Wasser + Toluol, $4^1/_2$ Stunde bei 37 bis 40° im Schüttelapparat geschüttelt, dann + Alkohol + Ammoniak ad 800 ccm, davon abfiltriert 700 ccm. Hieraus isoliert:

0,1452 g Papaverin als Base
= 0,1659 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,1825 g " mur. in der Gesamtmenge = 91%.

b) Leber aufgekocht, nachher genau behandelt wie a) + Alkohol + Ammoniak ad 800 ccm, davon abfiltriert 673 ccm. Hieraus isoliert:

0,1372 g Papaverin als Base
= 0,1631 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,179 g " mur. in der Gasamtmenge = 89,5%.

c) Niere + 0,2 g Papaver. mur. genau behandelt wie a) + Alkohol + Ammoniak ad 310 ccm, davon abfiltriert 256 ccm. Hieraus isoliert:

0,139 g Papaverin als Base mit Sp. 145 bis 146°
= 0,168 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,185 g " mur. in der Gesamtmenge = 92%.

d) **Niere, aufgekocht,** nachher genau behandelt wie c) bzw. a) + Alkohol + Ammoniak ad 310 ccm, davon abfiltriert 285 ccm. Hieraus isoliert:

0,163 g Papaverin als Base mit Sp. 145 bis 146°
= 0,177 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,195 g " mur. in der Gesamtmenge = 99 %.

e) **Pankreas** + 0,2 g Papaver. mur. genau behandelt wie a) + Alkohol + Ammoniak ad 250 ccm, davon abfiltriert 228 ccm. Hieraus isoliert:

0,149 g Papaverin als Base
= 0,163 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,179 g " mur. in der Gesamtmenge = 89,5 %.

f) **Pankreas, aufgekocht** mit 0,2 g Papaver. mur., genau behandelt wie e) bzw. a) + Alkohol + Ammoniak ad 250 ccm, davon abfiltriert 236 ccm. Hieraus isoliert:

0,162 g Papaverin als Base mit Sp. 147,5°
= 0,171 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,189 g " mur. in der Gesamtmenge = 94,5 %.

4. Versuch extra corpus (mit Hundeorganen).

Ein gesunder Hund wird getötet. Demselben werden sofort Leber, Pankreas, Niere, Muskel und Gehirn entnommen, sofort zermahlen und nach obiger Methode verarbeitet.

a) **Leber + Pankreas,** fein zermahlen, 100 g + 0,2 g Papaverin. mur. + Kochsalzlösung + Toluol = 225 ccm, bei 36 bis 41° im Schüttelapparat, 5½ Stunde geschüttelt. Darauf + Alkohol + Ammoniak ad 800 ccm. Davon abfiltriert 630 ccm. Hieraus isoliert:

0,0982 g Papaverin als Base mit Sp. 147 bis 148°
(ohne Umkrystallisieren)
= 0,1247 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,137 g " mur. in der Gesamtmenge = 68 %.

b) **Leber + Pankreas,** fein zermahlen, 100 g erst aufgekocht, dann genau behandelt wie a) + Alkohol + Ammoniak ad 700 ccm, davon abfiltriert 600 ccm. Hieraus isoliert:

0,1153 g Papaperin als Base mit Sp. 147° (nach 1 maligem Umkrystallisieren)
= 0,1345 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,148 g " mur. in der Gesamtmenge = 74 %.

c) **Niere** (25 g) + 0,2 g Papaver. mur., genau behandelt wie a) (95 ccm Schüttelflüssigkeit) + Alkohol + Ammoniak ad 300 ccm. Davon abfiltriert 250 ccm. Hieraus isoliert:

0,1081 g Papaverin als Base
= 0,1297 g „ „ „ in der Gesamtmenge
= 0,1426 g „ mur. in der Gesamtmenge = 71 %.

d) **Niere** (25 g), aufgekocht, nachher genau behandelt wie c) bzw. a) (70 ccm Schüttelflüssigkeit) + Alkohol + Ammoniak ad 250 ccm, davon abfiltriert 225 ccm. Hieraus isoliert:

0,1402 g Papaverin als Base
= 0,1558 g „ „ „ in der Gesamtmenge
= 0,1714 g „ mur. in der Gesamtmenge = 85,7 %.

e) **Muskel** (80 g) + 0,2 g Papaver. pur., genau behandelt wie a) (225 ccm Schüttelflüssigkeit) + Alkohol + Ammoniak ad 800 ccm, davon abfiltriert 680 ccm. Hieraus isoliert:

0,1245 g Papaverin als Base
= 0,1465 g „ „ „ in der Gesamtmenge
= 0,1612 g „ mur. in der Gesamtmenge = 80,6 %.

f) **Muskel** (80 g), aufgekocht, nachher genau behandelt wie e) bzw. a) (160 ccm Schüttelflüssigkeit) + Alkohol + Ammoniak ad 500 ccm, davon abfiltriert 430 ccm. Hieraus isoliert:

0,1412 g Papaverin als Base
= 0,1642 g „ „ „ in der Gesamtmenge
= 0,1806 g „ mur. in der Gesamtmenge = 90,3 %.

g) **Gehirn** (20 g) + 0,2 g Papaver. mur., genau behandelt wie a) (80 ccm Schüttelflüssigkeit) + Alkohol + Ammoniak ad 250 ccm, davon abfiltriert 220 ccm. Hieraus isoliert:

0,145 g Papaverin als Base mit Sp. 146 bis 147°
= 0,1647 g „ „ „ in der Gesamtmenge
= 0,181 g „ mur. in der Gesamtmenge = 90,5 %.

h) **Gehirn** (20 g), aufgekocht, genau behandelt wie g) bzw. a) (60 ccm Schüttelflüssigkeit) + Alkohol + Ammoniak ad 200 ccm, davon abfiltriert 182 ccm. Hieraus isoliert:

0,155 g Papaverin als Base mit Sp. 146 bis 147°
= 0,170 g „ „ „ in der Gesamtmenge
= 0,187 g „ mur. in der Gesamtmenge = 93,5 %.

5. Versuch extra corpus (mit Hundeorganen).

Ein Hund, der 0,0005 g Atropin + 0,04 g Morphium mur. bekommen hat, wird getötet. Pankreas und Niere sofort entnommen und nach obiger Methode verarbeitet.

a) **Pankreas**, fein zermahlen, + 0,2 g Papaver. mur. + Wasser + Toluol, bleibt 16 Stunden im Brutschrank bei 40° unter öfterem Umrühren stehen, wird dann versetzt mit Alkohol + Ammoniak ad 200 ccm. Hiervon abfiltriert 183 ccm. Hieraus isoliert:

0,1142 g Papaverin als Base mit Sp. 146°
= 0,1248 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,137 g " mur. in der Gesamtmenge = 68%.

b) **Pankreas**, aufgekocht, + 0,2 g Papaver. mur. + Wasser, nach dem Aufkochen gleich + Alkohol + Ammoniak ad 200 ccm, davon abfiltriert 182 ccm. Hieraus isoliert:

0,1521 g Papaverin als Base mit Sp. 146 bis 147°
= 0,1672 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,183 g " mur. in der Gesamtmenge = 91%.

c) **Niere** + 0,2 g Papaver. mur., genau behandelt wie a), + Alkohol + Ammoniak ad 300 ccm, davon abfiltriert 280 ccm. Hieraus isoliert:

0,1474 g Papaverin als Base mit Sp. 147°
= 0,158 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,174 g " mur. in der Gesamtmenge = 87%.

d) **Niere**, aufgekocht, + 0,2 g Papaver. mur., genau behandelt wie b), + Alkohol + Ammoniak ad 300 ccm, hiervon abfiltriert 272 ccm. Hieraus isoliert:

0,1632 g Papaverin als Base mit Sp. 146 bis 147°
= 0,180 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,198 g " mur. in der Gesamtmenge = 99%.

6. Versuch extra corpus (mit Hundedärmen).

In ein ca. 40 cm langes Stück Hundedarm, der einem frisch getöteten Hunde entnommen wurde, wurden 9,6 ccm einer 1%igen Papaverinlösung entsprechend 0,096 g Papav. mur. eingespritzt. Der Darm wurde sofort zugebunden und bei ge-

wöhnlicher Temperatur 18 Stunden sich selbst überlassen. Nachher wurde der Darm geöffnet.

Der Darminhalt (Reaktion sauer) war gelb, wurde mit der abgekratzten Darmschleimhaut vereinigt, der Darm gut abgespült und die gesammelten Flüssigkeiten mit Alkohol und Ammoniak versetzt. Der Darm selbst wurde zermahlen, mit Wasser auf dem siedenden Wasserbade erhitzt und nachher ebenfalls mit Alkohol und Ammoniak versetzt und dies mit dem alkoholisch ammoniakalischen Darminhalt vereinigt ad 550 ccm. Hiervon abfiltriert 500 ccm. Hieraus wurden isoliert:

0,067 g Papaverin als Base mit Sp. 146 bis 147° nach 1maligem Umkrystallisieren
= 0,0757 g Papaverin als Base in der Gesamtmenge
= 0,083 g " mur. in der Gesamtmenge = 86,4 %.

Ein zweiter genau so behandelter Versuch mit einem 50 cm langen Stück Darm eines anderen Hundes lieferte:

0,0698 g Papaverin als Base
= 0,0768 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,0850 g " mur. in der Gesamtmenge = 87,4 %

7. Versuch extra corpus (mit Hundefaeces).

a) 10 g frische Hundefaeces wurden mit Wasser und 0,1 g Papav. mur. verrührt, 2 Tage bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen, dann + Alkohol + Ammoniak ad 200 ccm, davon abfiltriert 150 ccm, hieraus isoliert:

0,0614 g Papaverin als Base
= 0,0819 g " " " in der Gesamtmenge
= 0,09 g " mur. in der Gesamtmenge = 90 %.

b) Kontrollversuch zu a), genau behandelt wie a), jedoch ohne Papaverinzusatz. Nach Ammoniakzusatz zu der wässerigen sauren Endlösung blieb letztere unverändert klar, selbst noch nach 3 Tagen.

8. Versuch extra corpus (mit Hundeharn).

Von einem Normalhunde, der Fleischfütterung bekommen hat, wird zu diesem Versuch der Harn verwendet. Reaktion desselben sauer. Es werden je 100 ccm Harn verwendet.

a) + 0,1 g Papav. mur. + Toluol. Diese Mischung wird im Brutschrank bei 40° unter öfterem Umrühren 16 Stunden sich

selbst überlassen, dann + Alkohol + Ammoniak. Es wurden hieraus isoliert:

0,0844 g Papaverin als Base
= 0,0928 g „ mur. = 92,8 %.

b) + 0,1 g Papav. mur. + Toluol gleich versetzt mit Alkohol und Ammoniak ohne Brutschrank, sonst ebenso behandelt wie a). Es wurden wiedergefunden:

0,0824 g Papaverin als Base
= 0,0964 g „ mur. = 96,4 %.

9. Versuch extra corpus (mit Blut).

Verwendet werden je 80 ccm Pferdeblut.

a) + 0,1 g Papav. mur. + Toluol werden im Brutschrank bei 40 bis 42° 15 Stunden sich selbst überlassen, dann + Alkohol + Ammoniak ad 500 ccm, hiervon abfiltriert 340 ccm. Hieraus isoliert:

0,0502 g Papaverin als Base mit Sp. 147°
= 0,0738 g „ „ „ in der Gesamtmenge
= 0,0812 g „ mur. in der Gesamtmenge = 81,2 %.

Ein zweiter Versuch wurde genau so ausgeführt wie a), derselbe ergab folgendes: Es wurden aus der Fällungsflüssigkeit isoliert:

0,0738 g Papav. mur. = 73,8 %.

b) Ebenso behandelt wie a), nur ohne Toluol und ohne Brutschrank, also + 0,1 Papav. mur., dann sofort + Alkohol + Ammoniak ad 500 ccm, hiervon abfiltriert 320 ccm. Hieraus isoliert:

0,0572 g Papaverin als Base
= 0,0894 g „ „ „ in der Gesamtmenge
= 0,0983 g „ mur. in der Gesamtmenge = 98,3 %.

Ein zweiter Versuch wurde genau so ausgeführt wie b), derselbe ergab folgendes: Es wurden aus der Fällungsflüssigkeit isoliert:

0,0911 g Papav. mur. = 91,1 %.

10. Versuch extra corpus (mit Pepsin und Salzsäure).

a) 0,1 g Pepsin + 30 ccm 0,25 %ige Salzsäure + 0,1 g Papav. mur. werden im Brutschrank 17 Stunden bei 40° sich selbst überlassen, dann wird die Flüssigkeit mit Ammoniak gefällt. Es wurden hierdurch zurückerhalten:

0,086 g Papaverin als Base mit Sp. 147°
= 0,095 g " mur. = 95 %.

Aus einer zweiten genau wie a) behandelten Probe wurden 0,096 g Papav. mur. = 96 % isoliert.

b) Blinder Versuch zu a), genau behandelt wie a), nur ohne Papaverinzusatz. Durch Ammoniakzusatz entstand nicht die geringste Trübung oder Abscheidung.

11. Versuch extra corpus (mit Trypsin und Natriumcarbonat).

a) 0,1 g Trypsin + 30 ccm 0,25 %ige Natriumcarbonatlösung + 0,1 g Papav. mur. werden im Brutschrank 17 Stunden sich selbst überlassen. Am nächsten Morgen war bereits krystallinische Abscheidung von Papaverin erfolgt. Papaverin ist also auch hier unangegriffen geblieben. Es wurden wiedergewonnen:

0,087 g Papaverin als Base mit Sp. 147°
= 0,096 g " mur. = 96 %.

b) Blinder Versuch zu a). Genau behandelt wie a), nur ohne Papaverinzusatz. Die Lösung war am nächsten Morgen noch vollkommen klar.

C. Versuche am lebenden Tier.

Versuch 1.

Kaninchen, 1700 g,

bekommt im Zwischenraum von einer Stunde je 0,25/5, also im ganzen 0,5 g Papav. mur. subcutan.

Nach 2 Tagen wurden vorgefunden:

Harn 85 ccm. Reaktion desselben: alkalisch. Derselbe wurde angesäuert, etwas erwärmt, + Alkohol + Ammoniak auf 300 ccm gebracht und diese Lösung nach vorstehender Methode verarbeitet. Die hieraus erhaltene salzsaure Endlösung blieb auf Zusatz von Ammoniak vollkommen klar, Papaverin in diesem Harn also nicht nachweisbar.

Versuch 2.

Katze, 2100 g,

bekommt 0,25 g Papav. mur. in 5 ccm Wasser gelöst subcutan.

Am übernächsten Tage vorgefunden:

Harn 82 ccm. Derselbe angesäuert + Alkohol + Ammoniak ad 345 ccm. Die nach oben beschriebener Methode hieraus erhaltenene saure Endlösung:

a) + Jodkaliumquecksilberjodid: geringe Fällung.

b) + Ammoniak: unverändert klar, also Papaverin nicht nachweisbar.

Versuch 3.

Katze.

Daselbe Tier bekommt nach 3 Tagen subcutan Papav. mur. 0,3 g auf 40 ccm Kochsalzlösung in 2 Dosen à 0,15 g innerhalb 5 Stunden. Nach 19 Stunden läßt das Tier

Harn 35 ccm. Reaktion desselben sauer. Derselbe + Wasser ad 60 ccm + Alkohol + Ammoniak ad 220 ccm. Die hieraus erhaltene wässerige Endlösung betrug 50 ccm. Hiervon 40 ccm + Ammoniak: Flüssigkeit blieb unverändert klar, auch noch nach 3 Tagen, also kein Papaverin. Die restlichen 10 ccm werden geprüft

a) mit Jodjodkalium: dicker, dunkler Niederschlag (Kontrolle mit normalem Harn negativ);
b) mit Tannin: dicker, brauner Niederschlag;
c) mit Phosphorwolframsäure: dicker, grauer Niederschlag (Kontrollprobe hierzu mit normalem Harn genau so behandelt: ergab nur eine schwache Trübung).

Versuch 4.

Katze.

Tier bekommt subcutan Papav. mur. 0,5 auf 50.

1. Injektion 0,15 auf 15,0,
2. " nach 10 Stunden 0,15 auf 15,0,
3. " nach weiteren 12 Stunden 0,2 auf 20,0,

in Summa 0,5 Papav. mur.

Sieben Stunden nach der letzten Injektion wird das Tier durch Verbluten getötet.

Dem Tiere werden entnommen und verarbeitet:

1. **Magen.** In demselben kein Inhalt, daher ganz zermahlen, angesäuert, mit etwas warmem Wasser und Alkohol im Überschuß versetzt, ammoniakalisch gemacht, tüchtig geschüttelt, am nächsten Morgen filtriert, Filtrat nach schwachem Ansäuern mit Salzsäure durch Destillation und Eindampfen vom Alkohol

befreit, Rückstand mit siedendem Wasser aufgenommen, filtriert. Filtrat konnte trotz mehrmaligen Filtrierens nicht ganz klar erhalten werden. Dasselbe nun + Ammoniak: Flüssigkeit klärte sich daraufhin sofort und blieb auch vollkommen klar; auch noch nach mehreren Tagen. Also kein Papaverin.

2. **Dünndarm.** Aufgeschnitten, Inhalt mit Wasser in eine Schale gespült und herausgedrückt, angesäuert, dann ebenso behandelt wie Magen, wässeriges, saures Filtrat rief mit Ammoniak keine Trübung und keinen Niederschlag hervor, also kein Papaverin.

3. **Dickdarm.** Inhalt grau, fettig, Reaktion neutral, genau behandelt wie Dünndarm bzw. Magen. Saures, wässeriges Endfiltrat + Ammoniak: Keine Trübung und keine Fällung, also kein Papaverin. Auch die Reaktionen mit Jodjodkalium und Jodkaliumquecksilberjodid verliefen fast negativ.

Nach einigen Tagen war in der ammoniakalischen Flüssigkeit eine minimale bräunliche Abscheidung entstanden. Dieselbe war löslich in Salzsäure, dann mit Ammoniak wieder ausfällbar, im großen Überschuß von Ammoniak unlöslich, also kein Papaverin.

4. **Leber.** Reaktion neutral. Zerrieben und behandelt wie Magen. Wässeriges, saures Endfiltrat + Ammoniak blieb unverändert, enthielt also kein Papaverin. Das eben erwähnte salzsaure Endfiltrat + Jodjodkalium sowie Jodkaliumquecksilberjodid riefen schwache Fällungen hervor.

5. **Galle.** Reaktion sauer. Das hieraus erhaltene saure, wässerige Endfiltrat war hellgelb + Ammoniak: unverändert, also Papaverin nicht nachweisbar.

6. **Erbrochenes.** Reaktion sauer. Wässeriges, saures Endfiltrat weingelb. a) + Jodjodkalium; b) + Jodkaliumquecksilberjodid: mäßige Fällungen; c) + Ammoniak: unverändert, also Papaverin nicht nachweisbar.

7. **Harn.** Auch hierin nach obiger Methode Papaverin nicht nachweisbar.

Obige Lösungen, in denen mit Ammoniak keine Fällung hervorgerufen war, wurden auf 50 ccm verdünnt und mit ihnen nachfolgende Kontrollen durchgeführt. Je 10 ccm davon wurden mit 0,002 g Papav. mur. (verwendet wurden je 0,2 ccm

einer 1 $^0/_0$ igen salzsauren Papaverinlösung in Wasser) versetzt. Resultat:

Dickdarm: Flüssigkeit trübt sich, nach einigen Tagen Abscheidung.

Leber: Erst Trübung, nach 15 Stunden etwas krystallinische Abscheidung.

Magen: desgleichen.

Erbrochenes: Trübung, nach einiger Zeit krystallinische Abscheidung.

Galle: Flüssigkeit trübte sich.

Aus diesen Ergebnissen ist zu ersehen, daß, wenn Papaverin in diesen Flüssigkeiten vorhanden gewesen wäre, es mit Sicherheit durch diese Ammoniakfällung hätte wiedergefunden werden müssen.

Versuch 5.

Hund, 7000 g.

Bekommt im ganzen 3,5 g Papav. mur. subcutan, verteilt auf 3 Tage. Das Tier wird 16 Stunden nach der letzten Injektion durch Verbluten getötet.

Es werden verarbeitet: Blut, Mageninhalt + Magenwand, Darminhalt, gesammelter Harn, Harn aus der Blase und Leber.

Von Leber und Darm wird eine kleine Probe zurückbehalten und zur Sicherheit mit je 0,05 g Papav. mur. versetzt. Die weitere Verarbeitung dieser Proben wird nachher besprochen.

Die Hauptproben werden halbiert und nach der erwähnten üblichen Methode behandelt.

Durch Versetzen der einzelnen wässerigen sauren Endflüssigkeiten mit Ammoniak konnte aus denselben Papaverin nicht isoliert werden.

Die eben erwähnten Proben (Darminhalt und Leberbrei), denen zur Kontrolle nunmehr je 0,05 Papav. mur. zugesetzt wurden, ergaben, nach üblicher Methode behandelt, folgendes:

a) Darminhalt. Das saure, wässerige Endfiltrat lief trotz mehrmaligen Filtrierens immer trübe durchs Filter mit anscheinend minimalen Mengen öliger Bestandteile. Am nächsten Tage war das Filtrat fast klar, wurde nochmals filtriert, auf dem Filter blieb nichts zurück. Filtrat + Ammoniak: Starke

milchige Trübung, am nächsten Tage teils krystallinisch, teils verharzte Abscheidung, nach einigen Tagen war alles krystallinisch. Diese Menge krystallinischer Abscheidung betrug 0,04 g = 0,044 Papav. mur. Der Schmelzpunkt dieser krystallinischen Abscheidung betrug nach einmaligem Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol 146 bis 147°, entsprach also dem Schmelzpunkt des Papaverins.

b) Leberbrei: die alkoholisch-ammoniakalische Lösung betrug 250 ccm. Hiervon abfiltriert 160 ccm. Hieraus nach üblicher Methode isoliert:

0,0262 g Papaverin als Base
= 0,0409 g " berechnet auf die Gesamtmenge Leberbrei
= 0,045 g " mur.

Hieraus geht wieder hervor, daß in den untersuchten Organteilen vorhandenes Papaverin fast quantitativ wiedergefunden werden könnte, fällungshemmende Substanzen also nicht vorhanden waren.

Versuch 6.

Hund, 7000 g.

Letzte Fütterung dieses Tieres am Tage vorher. Einführung einer Kanüle in den Dünndarm, um das während des Versuchs eventuell ausgeschiedene Papaverin herauszuleiten; während der Operation wurde zur Narkose Äther verwendet. Das Tier bekommt 200 ccm Wasser durch Schlundsonde in den Magen. Alsdann erhält das Tier subcutan 1 g Papav. mur. auf 100 ccm Wasser in zwei Dosen à 0,5 auf 50 innerhalb 1 Stunde und 40 Minuten. Nach ungefähr 4 Stunden erfolgt Erbrechen, nach weiteren $^3/_4$ Stunden erfolgt der Tod des Tieres.

Es wird geprüft:

1. **Erbrochenes:** 200 ccm, dunkelbraun, Reaktion schwach sauer. Die Flüssigkeit wird nach üblicher Methode verarbeitet. Das wässerige, saure Endfiltrat gab auf Zusatz von Ammoniak eine schwache Trübung. Nach 3 Tagen erfolgte Flockenausscheidung. Die Menge dieser Abscheidung betrug 0,0032 g.

Dieselbe wurde mit Fröhdes Reagens auf Papaverin geprüft.

Resultat: Rotbraun, allmählich in braun übergehend, mit schwach grünlichem Rande, wurde allmählich ganz dunkel

saftgrün, nach 6 Stunden grasgrün. Dies Farbenspiel stimmt mit dem Farbenspiel, das Papaverin selbst gibt, nicht überein. Die Anwesenheit von Papaverin konnte somit nicht erwiesen werden. Die Abscheidung war so gering, daß weitere Untersuchungen hiermit nicht mehr ausgeführt werden konnten.

2. **Darm- und Mageninhalt:** 175 ccm (Reaktion amphoter), behandelt wie Erbrochenes; wässeriges, saures Endfiltrat war dunkelbraun, minimal getrübt, war durch mehrmaliges Filtrieren nicht klar zu bekommen.

+ Ammoniak: wurde völlig klar und blieb so auch noch nach 8 Tagen, Papaverin also nicht nachweisbar.

3. **Leber + Pankreas:** 200 g, schwach sauer, und

4. **Niere:** 30 g, sauer, behandelt wie Erbrochenes. Wässeriges, saures Endfiltrat + Ammoniak: unverändert klar, auch nach mehreren Tagen; also kein Papaverin.

Auch in

5. **Gehirn,**

6. **Galle,**

7. **Blut,** genau so behandelt, konnte Papaverin nicht nachgewiesen werden.

Von obigen Flüssigkeiten, in denen Ammoniak keine Papaverinfällung erzeugt hatte, wurde ein Teil nach dem Ansäuern mit Salzsäure, mit Jodjodkalium und Quecksilberjodidjodkaliumlösung versetzt.

Resultat:

	+ Jodjodkalium	+ Jodkaliumquecksilberjodid
Hirn	Erst schwache Trübung, dann etwas rötliche Flockenabscheidung	Dicker Niederschlag
Blut	Erst geringe Trübung, dann minimale Flockenabscheidung	Rötlicher, dicker Niederschlag
Leber	Starke Flockenfällung.	Rötlicher Niederschlag
Magen und Darm	Sofort flockiger Niederschlag	
Niere	Starke Flockenfällung	Dicker, roter Niederschlag

Die Anwesenheit von alkaloidischen Stoffen schien allerdings hiernach nicht ausgeschlossen. Es bestand also auch hier noch die Möglichkeit, daß das Papaverin durch fällungs-

hemmende Stoffe der Ammoniakfällung entgangen wäre. Ich prüfte demgemäß die einzelnen ammoniakalischen Flüssigkeiten, indem ich zu je einem Teil der erwähnten Flüssigkeiten des Gehirns, Blutes, Leber, Magen-Darm und Niere je 0,001 g Papaverin ($1\,^0/_0$ige Lösung) hinzugab. In sämtlichen Flüssigkeiten erhielt ich im Gegensatz zu den Urflüssigkeiten, die unverändert klar geblieben waren, krystallinische Abscheidungen, im Hirn und in der Niere sogar schon nach einigen Stunden, in Blut und Leber nach etwa 24 Stunden, in Magen und Darm nach etwa 48 Stunden, wiederum ein Zeichen, daß Papaverin, selbst in minimalen Mengen, wenn in den geprüften Organen vorhanden, wieder zu finden ist.

Versuch 7.

Hund, 6000 g.

Letzte Fütterung 2 Tage vor dem Versuch. Das Tier bekommt 2,5 g Papav. mur. in 300 ccm Wasser gelöst, mittels Schlundsonde in den Magen. Die Speiseröhre wird darauf zugebunden, um ein eventuelles Erbrechen zu verhindern. Das Tier geht nach reichlich 4 Stunden zugrunde.

Dem Tier werden nach dem Tode folgende Organe entnommen:

1. **Magen.** Aus demselben werden 120 ccm dunkelbrauner Flüssigkeit gewonnen. Beim Ausfällen dieser Flüssigkeit hatte ich einen geringen Verlust, schätzungsweise von einigen Kubikzentimetern, also ca. $5\,^0/_0$. Reaktion dieser Flüssigkeit sauer.

Diese Flüssigkeit + Alkohol + Ammoniak ad 480 ccm, hiervon abfiltriert 370 ccm; aus diesen 370 ccm isoliert 0,6332 g bräunliche krystallinische Massen. Diese + $5\,^0/_0$ Verlust 0,0317 g

0,665 g

Dies berechnet auf die Gesamtmenge (480 ccm) = 0,863 Rohpavarin (als Base), = 0,9493 Papav. mur. (Rohprodukt).

Die wie oben erwähnt isolierten 0,6332 g krystallinische Massen wurden umkrystallisiert aus verdünntem Alkohol und ergaben 0,5632 g schöne, fast weiße Nadeln mit dem Schmelzpunkt 147^0, dem Schmelzpunkt des Papaverins. Dies, umgerechnet auf die Gesamtmenge des Mageninhalts ergab somit die Anwesenheit von 0,844 g = $33\,^0/_0$ reinem Papav. mur. im Mageninhalt.

2. **Darminhalt.** Hieraus wurden gewonnen:

128 ccm Flüssigkeit,

13 „ Verlust. Zur Verarbeitung gelangten also

115 ccm Flüssigkeit. Dieselbe war braun, Reaktion derselben ebenfalls sauer. Diese 115 ccm Flüssigkeit + Alkohol + Ammoniak ad 450 ccm, hiervon abfiltriert 370 ccm; hieraus isoliert 0,343 g gelbe krystallinische Massen.

Hieraus ergeben sich unter Berechnung des Verlustes 0,382 g Rohpapaverin (als Base). Somit in der Gesamtmenge (450 ccm) des Darminhalts 0,465 g Rohpapaverin (als Base), gleich 0,512 Papav. mur. (Rohprodukt).

Es sei hier noch ausdrücklich erwähnt, daß mit sämtlichen bei diesem letzten Versuche sowie mit allen bei den Versuchen extra corpus zurückgewonnenen Papaverinmengen auch einige qualitative Alkaloidreaktionen ausgeführt wurden: Jodjodkalium, Quecksilberjodidjodkalium und Phosphormolybdänsäure erzeugten in den angesäuerten Lösungen starke Niederschläge. Fröhdes Reagens färbte sich mit den Proben erst grün, die Farbe ging dann allmählich in Violett, dann in ein intensives Blau über. Die gleiche Reaktion mit reinem Papaverin, die der scharfen Kontrolle wegen stets daneben ausgeführt wurde, verlief genau so. Durch diese Reaktionen in Gemeinschaft mit den übrigen beobachteten Eigenschaften des aus den Organteilen zurückgewonnenen Papaverins (Löslichkeit seines salzsauren Salzes in Wasser und Alkohol, Löslichkeit der Base in Alkohol, Unlöslichkeit derselben in Wasser, gleiche Krystallform und hauptsächlich gleicher Schmelzpunkt wie bei reinem Papaverin) ist dasselbe als Papaverin hinreichend identifiziert.

Die aus den 370 ccm isolierten 0,343 g Rohpapaverin lieferten nach dem Umkrystallisieren aus heißem verdünnten Alkohol 0,317 g Reinprodukt mit Schmelzpunkt 147°. Dies, berechnet auf die Gesamtmenge (450 ccm) unter Berücksichtigung der Verluste, ergab somit 0,473 g = 18% Papaverinum mur. (Reinprodukt) im Darminhalt.

3. **Pankreas.** Aus demselben gelang es nach der üblichen Methode 2 mg schneeweißer Krystallnadeln zu isolieren, deren Schmelzpunkt ohne Umkrystallisieren bei 147 bis 148° lag. Andere Reaktionen konnten wegen der geringen Menge

der Substanz nicht mehr vorgenommen werden. Auch die Krystallform war die des Papaverins.

4. **Gehirn.**

5. **Leber.**

6. **Niere.**

7. **Lunge.**

In diesen letzten unter 4 bis 7 aufgezählten Organen wurden 1 bis 4 Tage nach der erfolgten Ammoniakfällung nur Spuren von feinen weißen Krystallnadeln wahrgenommen; in der Leber etwas mehr noch als in der Niere, noch weniger in der Lunge und im Gehirn. Die Mengen waren so gering, daß sie quantitativ nicht faßbar waren und somit auch die Bestimmung des Schmelzpunktes unterbleiben mußte. Der Krystallform nach lag Papaverin vor.

Ein kleiner Teil obiger Extrakte aus der Niere, Gehirn und Leber wurde noch nach Ansäuern mit Salzsäure mit Jodjodkalium und Wismutjodidjodkalium geprüft.

Resultat:

	Niere	Gehirn	Leber
+ Jodjodkalium	mäßige Flockenfällung	mäßige Flockenfällung	dicke Flockenfällung
+ Wismutjodidjodkalium	do.	do.	do.

Wenn der positive Verlauf dieser Reaktionen auch die Anwesenheit von Papaverin zwar nicht direkt beweist, so bleibt immerhin dadurch die Möglichkeit hierfür offen.

8. **Blase**, war stark kontrahiert und völlig entleert, so daß sich eine weitere Untersuchung erübrigte.

Die **Magen-** und **Darmwand** wurde noch fein zermahlen und nach üblicher Methode auf Papaverin hin behandelt. Hieraus wurden noch 0,14 g Papaverin, entsprechend 0,154 g = 6,1 % Papaverin. mur., gewonnen.

Es ist also bei diesem akuten Vergiftungsversuch mit der großen Menge von 2,5 g Papav. mur. gelungen, nach dem Tode des Tieres noch im ganzen etwa $1^1/_2$ g Papaverin aus den Organen zu isolieren, gleich 58 %. Ist somit die per os aufgenommene Papaverindosis eine abnorm große, dann findet man in den ersten Wegen einen Teil desselben wieder, jenseits der Darmwand jedoch höchstens nur ganz minimale Spuren.

II.

Nachdem nach den bisherigen Untersuchungen das Papaverin nur nach oraler Darreichung einer tödlichen Dosis in den ersten Wegen, also im Magen und Darm, in größeren Mengen, in einzelnen anderen Organen nur noch spurenweise, jedoch nach subcutaner Darreichung nicht wiedergefunden werden konnte, interessierte für letzteren Fall die Frage, ob etwa die Auffindung von Spaltungs- oder Umwandlungsprodukten des Papaverins in den Organen möglich oder sonst eine Veränderung in der Beschaffenheit der Ausscheidungsprodukte nach subcutaner Darreichung des Papaverins festzustellen sei.

In der Erwägung, daß sich durch Oxydation des Papaverins, das bekanntlich ein Isochinolinderivat nachstehender Strukturformel darstellt, u. a. Veratrumsäure (Dimethylätherprotocatechusäure) bildet[1], indem an der CH_2-Gruppe die

CH
HC C.OCH_3
C C.OCH_3
H_2C CH
C CH
C
N C.OCH_3
HC C C.OCH_3
C C
H H

Papaverin

CH
HC C.OCH_3
C C.OCH_3
HOOC CH

Dimethylätherprotocatechusäure (Veratrumsäure)

Spaltung eintritt, wurde an eine solche Spaltung auch im tierischen Organismus gedacht. Zum Nachweis derselben wurden die Angaben bei Pio Marfori[2]) in Betracht gezogen, nach denen die Veratrumsäure unverändert in den Harn abgeschieden wird.

Verfahren zur Isolierung der Veratrumsäure.

Veratrumsäure hat die Eigenschaft, sich als freie Säure sowie als Ammon- und Natronsalz in Alkohol zu lösen; diese

[1]) Beilstein, 3. Aufl., 2, 1741. — Schmidt, Ausführl. Lehrb. d. pharm. Chem., 3. Aufl., S. 1010.

[2]) Annali di chimica e farmacologia 24.

beiden Salze sind aber auch in Wasser löslich, und aus dieser wässerigen Lösung ist durch Ansäuern mit Salzsäure die freie Veratrumsäure als Krystallbrei ausfällbar. Unter Zugrundelegung dieses Prinzips verfuhr ich folgendermaßen:

Zu 100 ccm Hundeharn setzte ich 0,05 g Veratrumsäure in Lösung (mit Natronlauge eben alkalisiert), 200 ccm Alkohol, Ammoniak bis zur schwach alkalischen Reaktion, ließ 24 Stunden stehen, filtrierte, versetzte das Filtrat mit einigen Tropfen verdünnter Natronlauge, destillierte auf ein sehr kleines Volumen ab, filtrierte, versetzte das schwach natronalkalische Filtrat mit Salzsäure, wodurch sich auch hier die Veratrumsäure krystallinisch abschied. Sie wurde abfiltriert. Umkrystallisiert aus heißem verdünnten Alkohol, resultierten fast weiße, kleine Nadeln mit Schmelzpunkt 179 bis 180°, dem eigentlichen Schmelzpunkt der Veratrumsäure.

Tierversuch.

(Isolierungsversuch von Veratrumsäure nach Darreichung von Papaverin.)

Ein Hund bekommt innerhalb 3 Tagen 3,5 g Papaverin. mur. subcutan. Das Tier wird tags nach der letzten Injektion durch Verbluten getötet. Es werden untersucht

1. die Hälfte des während der ganzen Versuchsdauer gesammelten Harnes,

2. die Hälfte der übrigen Organe, die natürlich erst breiig zermahlen, mit Wasser verdünnt und dann wie der Harn weiter behandelt wurden.

Resultat: In diesen Objekten konnten selbst Spuren von Veratrumsäure nach obiger Methode nicht nachgewiesen werden.

Eine nennenswerte Spaltung des Papaverins im tierischen Organismus im vorstehenden Sinne erscheint somit unwahrscheinlich.

Als weitere Möglichkeit für das Verschwinden des Papaverins im Organismus wurde an ungiftige Umwandlungsprodukte, also etwa an die Bildung der völlig ungiftigen Papaverinsulfosäure, gepaarter Schwefelsäure, Glucuronsäure usw. gedacht.

Da mir für die erforderlichen Versuche von der Firma Hoffmann, La Roche & Co., Grenzach, ein ausreichendes Quantum der bisher noch unbekannten Papaverinsulfosäure eigens bereitet und in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt wurde, so habe ich bei der Leichtigkeit, mit der diese Verbindung entsteht, und obwohl ein homologer Befund in vivo noch nie beobachtet worden ist, zunächst gerade dieser Möglichkeit einige Versuche gewidmet.

Nach einmaligem Umkrystallisieren aus kochendem Wasser erhielt ich die Papaverinsulfosäure in schneeweißen, zu Drusen angeordneten Nadeln. Die Schmelzpunktbestimmung zeigte folgende Erscheinungen: bei 280° Dunkelwerden der Substanz, bei 288 bis 290°, eigentlicher Schmelzpunkt, unter Verkohlung.

Verfahren zur Wiedergewinnung der Papaverinsulfosäure.

a) Aus wässeriger Lösung.

Ich stellte fest, daß sich die Papaverinsulfosäure aus saurer, wässeriger Lösung mit Chloroform sehr leicht ausschütteln läßt, und daß aus dieser Chloroformlösung nach dem Eindunsten auf ein sehr kleines Volumen auf Zugabe von Äther die Papaverinsulfosäure fast quantitativ wieder abgeschieden wird. Die Methode schien also geeignet.

b) Aus Organteilen.

Nachdem ich mich überzeugt hatte, daß Harn und Fäkalien des Hundes, dessen Produkte nachher zum Versuch verwendet wurden, an sich, nach vorstehendem Prinzip behandelt (saure Chloroformausschüttelung + Äther), keine diese Methode störenden Substanzen enthielten (da die Chloroformauszüge, eingedampft, auf Ätherzusatz vollkommen klar blieben), verfuhr ich zur Wiedergewinnung der zu Harn und Fäkalien zugesetzten Papaverinsulfosäure folgendermaßen:

1. Bei Harn:

Derselbe wurde mit Phosphorsäure angesäuert, mit Chloroform 2 bis 3mal ausgeschüttelt, die Chloroformauszüge vereinigt, durch ein trockenes Filter filtriert, das Chloroform abdestilliert bis auf ca. 3 ccm, letztere mit ca. 20 ccm Äther versetzt. Die hierbei ausgefallene Papaverinsulfosäure wurde

1 mal aus kochendem Wasser umkrystallisiert und durch Krystallform und Schmelzpunkt (oben angegeben) identifiziert.

2. Bei Fäkalien:

Dieselben wurden mit Phosphorsäure angesäuert, eingetrocknet, zerrieben, im Extraktionsapparat mit Chloroform extrahiert, die erhaltene Chloroformlösung dann wie unter „1. Bei Harn“ angegeben weiter behandelt.

Vorstehende Methode lieferte folgende Resultate:

	Papaverinsulfosäure zugesetzt	Papaverinsulfosäure wiedergefunden
Harn 300 ccm	0,1 g	0,092 g
Fäkalien 60 g	0,1 g	0,09 g

Tierversuche.

Wiedergewinnung der einem Tier injizierten Papaverinsulfosäure.

Versuch 1.

Hund, 5000 g, bekommt Papaverinsulfosäure 0,5 ad 50,0 (die Lösung wurde mit Natriumcarbonat schwach alkalisiert) subcutan.

Es werden gesammelt:

1. Harn, der innerhalb 24 Stunden nach der Injektion geliefert wurde (gewonnen durch Katheterisieren),

2. Fäkalien, die innerhalb 48 Stunden nach der Injektion gewonnen wurden.

Es gelang nach vorstehender Methode

aus dem Harn . . 0,07 g Papaverinsulfosäure,
„ den Fäkalien. . 0,109 g „
zusammen 0,179 g Papaverinsulfosäure,

also 35,8 % der injizierten Menge der Papaverinsulfosäure, aus den Ausscheidungsprodukten wieder zurückzugewinnen.

Versuch 2.

Derselbe Hund bekommt 9 Tage später: Papaverinsulfosäure 1,0 ad 80,0 (Lösung wie bei Versuch 1 bereitet) subcutan.

Es werden gesammelt Harn und Fäkalien unter denselben

Bedingungen wie bei Versuch 1. Es gelang bei diesem Versuch nach der angegebenen Methode

aus dem Harn . . 0,15 g Papaverinsulfosäure,
„ den Fäkalien. . 0,182 g „
zusammen 0,332 g Papaverinsulfosäure,

also 33,2 % der injizierten Menge Papaverinsulfosäure, aus den Ausscheidungsprodukten wieder zu gewinnen.

Erwähnt sei noch, daß nach weiteren 24 Stunden im Harn in beiden Fällen Papaverinsulfosäure nicht mehr angetroffen wurde. In den Fäkalien der nächsten Tage waren nur noch ganz minimale Mengen Papaverinsulfosäure vorhanden, die nicht mehr in Betracht gezogen wurden. Die so wiedergewonnene Papaverinsulfosäure wurde nach einmaligem Umkrystallisieren aus kochendem Wasser durch Krystallform und Schmelzpunkt identifiziert.

Nachdem nun festgestellt war, daß die Papaverinsulfosäure unverändert zu mehr als $^1/_3$ der injizierten Menge in den Ausscheidungsprodukten wieder zu finden ist, machte ich nun den

Versuch, Papaverinsulfosäure aus Ausscheidungsprodukten von Tieren zu isolieren, die Papaverin subcutan bekommen haben.

Hierzu werden verwendet:

1. die Hälfte der Fäkalien eines Hundes, der 3,5 g Papaverin. mur. subcutan innerhalb 3 Tagen bekommen hat;

2. Gesamtfäkalien eines Hundes, der 1,1 g Papaverin. mur. subcutan erhielt (gesammelt von 3 Tagen);

3. $^4/_5$ des Harnes eines Hundes, der im Laufe von 2 Tagen 1,3 g Papaverin. mur. subcutan erhalten hat (gesammelt bis 24 Stunden nach der letzten Injektion).

Resultat:

Papaverinsulfosäure war nach vorstehender Methode in keinem dieser Objekte nachzuweisen. Eine Bildung von Papaverinsulfosäure nach Darreichung von Papaverin scheint somit im Organismus nicht stattzufinden, wenigstens nicht in dem Maße, daß dadurch eine Aufklärung über den Verbleib des Papaverins geschaffen werden kann.

Weiteres Augenmerk wurde dem Harn zugewendet.

Ich habe einen Teil des Harnes von einem Hunde, der im Laufe von 2 Tagen mit 1,1 g Papaverin. mur. subcutan behandelt worden ist, untersucht

1. darauf hin, ob die Darreichung von Papaverin eine Veränderung in dem Verhältnis von Gesamtschwefelsäure zu gepaarter Schwefelsäure herbeiführt.

Resultat:

Aus 50 ccm Harn wurden erhalten:

vor der Papaverinbehandlung	nach der Papaverinbehandlung
0,2108 g Gesamtbarytfällung	0,1305 g Gesamtbarytfällung
= 0,0723 g Gesamtschwefelsäure (als SO_3)	= 0,045 g Gesamtschwefelsäure (als SO_3)
alsdann nach Beseitigung der in der Kälte ausfällbaren Sulfate	
0,0076 g Barytfällung	0,004 g Barytfällung
= 0,0026 g gepaarte Schwefelsäure (SO_3)	= 0,0014 g gepaarte Schwefelsäure (SO_3)
also Verhältnis 100:3,6.	also Verhältnis 100:3,1.

Das Verhältnis von Gesamtschwefelsäure zu gepaarter Schwefelsäure im Harn ist also nach subcutaner Papaverindarreichung unverändert geblieben.

2. auf Reduktionsfähigkeit gegenüber alkalischer Kupfersulfatlösung:

Resultat:

Harn,

vor der Papaverinbehandlung	nach der Papaverinbehandlung
a) direkt	
+ Fehling: keine Reduktion.	+ Fehling: geringe Reduktion.
b) nach dem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure	
+ Fehling: minimale Reduktion.	+ Fehling: sehr starke Reduktion.

Der Gedanke an die Bildung einer Glucuronsäure lag nach diesem Ergebnis nahe, jedoch verliefen die Naphtholresorcinprobe und die Spektraluntersuchung auf Glucuronsäure negativ.

III.

Zum Schluß möchte ich nur noch das Hauptsächlichste über die Erscheinungen erwähnen, die ich bei Papaverindarreichung an Katzen, Kaninchen und Hunden beobachtet habe, da die bisher vorliegenden Angaben über Papaverinwirkung recht lückenhaft sind.

1. Bei Katzen (subcutane Darreichung).

Protokolle:

a) Katze, 2100 g, bekommt subcutan 0,25 g Papav. mur. gelöst in 5 ccm Wasser.

Erscheinungen: Unmittelbar nach Injektion: spontane Harnentleerung.

Nach 1 Minute: sehr aufgeregt, keift beim Herantreten an den Käfig.

Nach 9 Minuten: Tier wird müde, schließt die Augen.

Nach 13 Minuten: liegende Stellung.

Nach 23 Minuten: reagiert wenig auf Geräusche.

Nach 30 Minuten: Erbrechen des vor 1 Stunde eingenommenen Futters.

Nach 40 Minuten: Respirationsbeschleunigung, starke Salivation, schreit zuweilen.

Nach 50 Minuten: liegt lang hingestreckt, die hinteren Extremitäten paretisch.

Nach 51 Minuten: springt auf Anfassen hin in großem Satz vom Tisch, läuft schnell fort, im Käfig wieder vollkommen schlapp wie vorher.

Nach 1 Stunde 10 Minuten: status idem.

Nach 1 Stunde 12 Minuten: Erbrechen, Salivation.

Nach 1 Stunde 22 Minuten: Tier erhebt sich.

Nach 3 Stunden 30 Minuten: Tier wieder ziemlich munter, verweigert aber vorgesetzte Nahrung.

b) Katze, 2000 g, bekommt 2 mal je 0,15/20 Papaverin. mur. subcutan.

Erscheinungen nach der ersten Injektion:

Während der Injektion: spontane Harnentleerung.

Nach 10 Minuten: Tier ist müde, schließt die Augen.

Nach 19 Minuten: Tier unruhig, Atmung rascher.

Nach 25 Minuten: Erbrechen von Schleim.

Nach 30 Minuten: Tier sehr matt, lang hingestreckt, hintere Extremitäten schlapp, anscheinend schwach gelähmt, sehr schnelle Atmung, Salivation.

Nach 4 Stunden 30 Minuten: ziemlich normal.

Nach 5 Stunden 15 Minuten: bekommt das Tier die zweite Injektion von 0,15/20 Papaverin. mur.

Erscheinungen nach dieser zweiten Injektion:

Nach 10 Minuten: Tier sitzt zusammengekrümmt im Käfig.

Nach 15 Minuten: Atmung regelmäßig.

Nach 30 Minuten: Atmung beschleunigt, Tier liegt wieder wie nach der ersten Injektion lang hingestreckt, schreit zuweilen leise, starke Salivation.

Nach 1 Stunde 30 Minuten: status idem, schlapp, zeitweise Zuckungen.

Nach 1 Stunde 55 Minuten: Beim Versuch, sich zu erheben, fällt Tier auf die Seite und bleibt liegen.

Nach 16 Stunden: liegt gekrümmt im Käfig mit geschlossenen Augen, schreit beim Berühren, macht schwerkranken Eindruck.

Nach 2 Tagen: normal.

2. Bei Kaninchen (subcutan und intravenös).

Protokolle:

a) Kaninchen, 1700 g, bekommt subcutan 0,25/5 Pap. mur. und nach 7 Stunden 0,5/10 Papav. mur.

Erscheinungen nach der ersten Injektion (0,25/5):

Tier läßt unmittelbar nach Injektion Harn, Tier ziemlich normal.

Nach 23 Minuten: Kopf sinkt etwas herunter, sonst keine Erscheinungen.

Erscheinungen nach der zweiten Injektion (0,5/10):

Nach 30 Minuten: Respiration etwas beschleunigt.

Nach $1^1/_2$ Stunden: Respirationsbeschleuniguug läßt nach, sonst keine Erscheinungen.

Nach 3 Stunden: normal.

b) Kaninchen, 1800 g, bekommt intravenös (V. jugul.) 0,09 g Papav. mur.

Erscheinungen:

Zeit	1,0 Papav. mur. gelöst ad 100,0	Bemerkungen
10h 30′		Resp. 13, 14, in 10″.
10h 30′ bis 10h 32′	3,0 ccm = 0,03 Pap. mur.	
10h 36′		Resp. 12.
10h 37′ „ 10h 39′	6,0 „ = 0,06 „ „	Dyspnoe.
10h 40′		† an Respirationslähmung.

c) Kaninchen, 2000 g, bekommt intravenös in Vena femoralis.

Zeit	1,0 Papav. mur. in 100,0	Bemerkungen
11h 6′		Resp. 10, 11, in 10″.
11h 7′ bis 11h 11′	3,0 ccm = 0,030 Pap. mur.	
11h 30′ „ 11h 32′	2,0 „ = 0,020 „ „	
11h 34′	0,7 „ = 0,007 „ „	unruhig.
11h 35′ „ 11h 36′	0,3 „ = 0,003 „ „	
11h 38′	1,0 „ = 0,010 „ „	Dyspnoe.
11h 39′		Puls, Respiration gut, Cornealreflexe vorhanden.
11h 39′ „ 11h 41′	1,0 „ = 0,010 „ „	Respirationsstockung.
11h 43′ „ 11h 44′	1,0 „ = 0,010 „ „	
11h 44′ „ 11h 56′	4,0 „ = 0,040 „ „	
12h 4′	3,7 „ = 0,037 „ „	Cornealreflexe schwach.
12h 7′	1,3 „ = 0,013 „ „	tiefste Narkose, Resp. 9 in 10″
12h 15′	1,3 „ = 0,013 „ „	Cornealreflexe fast 0.
12h 18′		Resp. 5 in 10″.
12h 21′		Cornealreflexe 0.
Sa.	19,3 ccm = 0,19 g Pap. mur.	

Vena femoralis wird hierauf wieder zugebunden. Tier vollkommen paretisch, wird in einen Brutkasten (38° C) gesetzt, erholt sich darin.

4h 15′ Tier wieder munter, nach 3 Tagen †.

3. Bei Hunden (subcutan und per os).

a) Subcutane Darreichung von 0,03 g bis 0,06 g Pap. mur. pro Kilogramm Hund (verwendet wurden 5 bis 8 kg schwere Hunde).

Erscheinungen:

Nach ca. 20 Minuten: Beginn der narkotischen Wirkung. Anfangs steht das Tier meist mit herabhängendem Kopf im Käfig, macht benommenen Eindruck, wird schläfrig, ist aber dabei besonders bei großen Dosen öfters schreckhaft. Nach etwa $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunden wurden vereinzelt minimale Zuckungen an den vorderen Extremitäten und an den geschlossenen Augenlidern beobachtet, ferner bei Darreichung von

0,3 g Papav. mur. an einen 5 kg schweren Hund (also von 0,06 g pro Kilogramm Hund) auch Erbrechen, Defäkation fest und flüssig, Zittern, unsicherer Gang, Taumeln, Salivation, geringe Aufgeregtheit und Unruhe, die allmählich in eine gewisse Mattigkeit abklingt.

b) Aus rein toxikologisch forensischen Gründen bekam ein Hund eine letale Dosis Papaverin per os.

Protokoll:

Hund, ca. 8 kg schwer, bekommt per os 2,5 g Papav. mur. in 150 ccm Wasser gelöst mittels Schlundsonde. Erbrechen verhindert durch Schließen der Speiseröhre.

Erscheinungen:

Nach 5 Minuten: Würgbewegungen.

Nach 18 Minuten: zuckt zusammen bei schwachem Anklopfen an den Käfig; leises Zittern ums Maul.

Nach 25 Minuten: zittert, schreckhaft, Augen trübe, halb geschlossen.

Nach 35 Minuten: schläfrig.

Nach 45 Minuten: wiederholte Würgbewegungen, bleibt dann stehen mit herunterhängendem Kopf wie narkotisiert, aber schreckhaft.

Nach 1 Stunde 25 Minuten; liegend, versucht sich zu erheben, fällt dabei auf die Seite; hintere Extremitäten gelähmt, sucht sich wieder zu erheben, taumelt dabei; erneute Würgbewegungen.

Nach 1 Stunde 30 Minuten: Augen munter, preßt Kopf gegen Glascheibe des Käfigs, legt sich müde hin.

Nach 1 Stunde 50 Minuten: Würgbewegungen, darauf ermattet, legt sich matt auf die Seite.

Nach 1 Stunde 55 Minuten: sucht sich wieder zu erheben, taumelt dabei stark, fällt auf die Seite.

Nach 2 Stunden: 3 bis 4 minimale Krampfzuckungen an den Beinen, Schreckhaftigkeit hat nachgelassen. Tier liegt vollkommen zentral gelähmt auf der Seite. Cornealreflexe vorhanden. Augen munter. Schwache Laufbewegungen mit Vorderbeinen.

Nach 2 Stunden 15 Minuten: auf Kneifen in Beine und Zehen reagiert das Tier nicht.

Nach 2 Stunden 20 Minuten: versucht sich zu erheben, zittert dabei mit Beinen, sinkt wieder zusammen.

Nach 2 Stunden 27 Minuten: immer noch zentral gelähmt, schwere sehr langsame Atmung.

Nach 2 Stunden 45 Minuten: status idem, Cornealreflexe sehr schwach.

Nach 3 Stunden 55 Minuten: Cornealreflexe minimal, Atmung 0. Herz schlägt noch.

Nach 4 Stunden: Herzstillstand.

Zusammenfassung.

1. Nach meinen Versuchen ist bei subcutaner Darreichung von Papaverin. mur. an Kaninchen, Katzen und Hunden das Papaverin in den Organteilen bzw. Ausscheidungsprodukten der Tiere als solches nicht wiederzufinden. Welche speziellen Organe an der Verarbeitung des Papaverins beteiligt sind, darüber lassen sich aus den Ergebnissen der verschiedenen Digestions- und Schüttelversuche mit den einzelnen Organen, Organbestandteilen und Ausscheidungsprodukten sichere Schlüsse nicht ziehen. Auch Oxydations-, Spaltungs- und Umwandlungsprodukte des Papaverins, wie Dimethylätherprotocatechusäure (Veratrumsäure), Papaverinsulfosäure, oder eine Glucuronsäure konnten in den Ausscheidungsprodukten bzw. den übrigen Organteilen nicht angetroffen werden. Das Verhältnis von Gesamtschwefelsäure zu gepaarter Schwefelsäure im Harn bleibt nach der Papaverininjektion dasselbe wie vorher. Die Beschaffenheit des Harnes wich insofern von der Norm ab, als er nach der subcutanen Papaverindarreichung direkt eine sehr geringe, und nach der Spaltung durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure eine sehr starke Reduktionsfähigkeit gegen Fehlingsche Lösung aufwies.

2. Nach oraler Darreichung einer überletalen Papaverindosis gelingt es, nach dem Tode des Tieres einen großen Teil des applizierten Papaverins aus Magen und Darm wieder zu isolieren.

3. Was die toxische Wirkung sowie toxische und letale Dosis von Papaverin betrifft, so habe ich zusammenfassend folgendes beobachtet:

Bei Kaninchen ist die Dose von 0,12 g Papav. mur. pro Kilogramm Kaninchen subcutan so gut wie indifferent. Erst

0,25 g pro Kilogramm Kaninchen rufen geringe Erscheinungen wie etwas Atembeschleunigung hervor, letal wirken erst noch höhere Dosen. Intravenös allerdings treten schon bei Zentigrammen Respirationsstörungen und -lähmungen auf. Empfindlicher als Kaninchen gegen das Alkaloid sind die Fleischfresser, Katzen und Hunde: Die Hälfte der subcutanen Dosis, die bei Kaninchen indifferent ist, also 0,06 g pro Kilogramm Tier, lösen bei Katzen und Hunden teilweise schon schwere Vergiftungserscheinungen, bestehend in Zittern, unsicherem, taumelnden Gang, Krampf, Zuckungen, Lähmung, Salivation, fliegender Atem usw. aus, und die letale Dosis dürfte sich von dieser Dosis nicht allzuweit entfernen. Die doppelte Dosis, also 0,12 g Papav. mur. pro Kilogramm Tier, hat bei Hunden immer innerhalb mehrerer Stunden zum Tode geführt.

4. Papaverinsulfosäure ist im Gegensatz zum Papaverin selbst in der Wirkung so gut wie indifferent und kann nach subcutaner Darreichung zu etwa 35% aus den Ausscheidungsprodukten wieder isoliert werden.

Wenn es mir nicht gelungen ist, ein Spaltungsprodukt des Papaverins nachzuweisen, so beweist dies natürlich nicht, daß unsere Base vollkommen gespalten und zerstört wird, sondern macht dies nur sehr wahrscheinlich. Vielleicht gelingt es bei Versuchen mit chronischer Darreichung des Papaverins zu einem positiven Befunde zu gelangen. Nehmen wir nun an, daß sich die Schicksale des Papaverins beim Menschen ebenso gestalten wie beim Tiere, dann wird man — und damit sind wir beim forensen Ausgangspunkt meiner Arbeit wieder angelangt — auch hier vergeblich auf unverändertes Papaverin fahnden, außer bei Aufnahme abnorm hoher Dosen. Es liegt ferner nahe, das gerade beim Menschen beobachtete bald eintretende Abklingen und die Abstumpfung, d. h. Abschwächung der Reaktion bei rasch aufeinander folgenden Gaben von Papaverin auf die wohl leichtest eintretende Zerstörung des Alkaloids zu beziehen.

Über die Verteilung und das Schicksal des kolloiden Silbers im Säugetierkörper.

III. Mitteilung.

Von

J. Voigt (Göttingen, z. Zt. im Felde).

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen.)

(Eingegangen am 23. September 1914.)

Mit 2 Figuren im Text.

Die in dem vorigen (II.) Bericht mitgeteilten quantitativen Analysen hatten die Aufgabe gehabt, festzustellen, wieviel von dem intravenös injizierten kolloidalen Silber in den einzelnen Organen festgehalten wird. Von ebenso großer Wichtigkeit mußte es aber sein, zu erkennen, wie dieses Festhalten von Silber in den verschiedenen Organen erfolgte. Für diese Untersuchungen war das einzige zur Verfügung stehende Hilfsmittel die mikroskopische Untersuchung, deren Bedeutung für das Studium der Verteilung P. Ehrlich als erster erkannt und hervorgehoben hatte. Während aber die bisher übliche Form der Betrachtung mikroskopischer Schnitte bei den Versuchen mit Farbstoffen genügte, mußte sie bei Verwendung eines kolloidalen Metalles versagen. Nur die gröberen Niederschläge, die durch das Zusammenballen größerer Mengen von Submikronen entstanden sind, werden bei der gewöhnlichen Mikroskopie wahrnehmbar, alle übrigen entziehen sich aber der Beobachtung, werden dementsprechend also wie überhaupt nicht vorhanden gerechnet. Diese Schwierigkeiten, die es unmöglich machen, durch mikroskopische Untersuchung über die Verteilung des kolloidalen Silbers in den Organen Aufschluß zu erhalten, erklären sich folgendermaßen. Während die gröberen Silberablagerungen sich durch ihre intensive Braun- oder Schwarzfärbung deutlich gegen das umgebende Gewebe ab-

heben, fällt dieser Farbunterschied für die feineren, jedoch noch innerhalb des Auflösungsvermögens des Mikroskopes liegenden Metallniederschläge fort. Die Körnelung des fixierten Protoplasmas verdeckt diese Partikelchen, oder läßt sie wenigstens nicht klar hervortreten. Ferner muß aber bei den auf das Studium der Verteilung gerichteten Untersuchungen mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß an einzelnen Stellen des Organismus wenigstens Metallteilchen im Gewebe abgelagert sind, deren Größe unterhalb des Auflösungsvermögens der optischen Systeme des Mikroskopes bleibt. Besteht doch das kolloidale Silber nach meinen Beobachtungen aus Teilchen, deren Lineardurchmesser zwischen 14,5 und 26 $\mu\mu$ beträgt.

Bevor man also an ein systematisches Studium der mikroskopischen Präparate gehen konnte, die von unseren Versuchstieren gewonnen waren, mußte eine doppelte Aufgabe gelöst werden: 1. galt es, den störenden Einfluß des Protoplasmas auszuschalten oder doch wenigstens herabzusetzen, 2. die eventuell vorhandenen ultramikroskopischen Partikelchen wahrnehmbar zu machen.

Die Versuche, durch Behandeln der einzelnen Schnitte mit Kalilauge die erste Aufgabe zu lösen, führten zu keinem Erfolge. Unter dem Einflusse dieses Reagens quollen die Gewebe ungleichmäßig auf, die Schnitte lösten sich teilweise oder ganz vom Objektträger los, auf welchem sie aufgeklebt worden waren, und ließen schließlich nicht mehr erkennen als zuvor. Natronlauge wirkte genau ebenso und Pepsin-Salzsäure gab auch nicht das gewünschte Resultat. Der Gedanke, einen oder mehrere dicke Schnitte so vollständig zur Auflösung zu bringen, daß nur das injizierte Silber übrig blieb, mußte mit Rücksicht auf die außerordentliche geringe Menge von Ag, die bestenfalls in einzelnen Organen zu erwarten war, fallen gelassen werden. Außerdem war bei diesem Verfahren auch kein Aufschluß darüber zu erlangen, wie das Silber in den einzelnen Organen festgehalten wurde.

Die eigentliche Ultramikroskopie, wie ich sie im Institut für anorganische Chemie ausführen durfte, beruht bekanntlich auf der Tatsache, daß Partikelchen mit einem anderen Brechungsindex als dem des umgebenden Mediums

seitlich auffallende Lichtstrahlen diffus reflektieren und dadurch selber leuchtend auf dunklem Grunde erscheinen. Weil nun die, durch die erwähnte diffuse Reflexion entstehenden Beugungsscheibchen einen weit größeren Durchmesser haben als die reflektierenden Partikelchen (bis zum 200 fachen!), werden gewissermaßen diese Partikelchen selber wahrnehmbar gemacht, allerdings unter Verzicht auf ein Erkennen ihrer Gestalt. Da außerdem ein leuchtender Punkt auf dunklem Grunde viel deutlicher und leichter wahrnehmbar ist, als es bei entgegengesetzten Verhältnissen der Fall ist, schien ein der Ultramikroskopie ähnliches Verfahren die meiste Aussicht zu bieten, der Lösung der beiden erwähnten Aufgaben näher zu kommen.

Die Untersuchung im Ultramikroskop selber mußte allerdings von vornherein ausscheiden, da dies Verfahren zunächst nur für Flüssigkeiten und ähnliche durchsichtige Medien berechnet ist. Die theoretisch nicht ganz unmögliche Modifikation des Apparates zur Untersuchung von Gewebsteilen hätte aber sehr zeitraubende und kostspielige Versuche erfordert. Die einfachsten Formen der Dunkelfeldbeleuchtung mittels der Sternblende allein, oder unter Verwendung des gewöhnlichen Kondensors als Immersionskondensor geben zwar von den groben Niederschlägen gute Bilder, bei der letzteren konnte man hie und da feinere Ablagerungen erkennen. Wesentlich besser gelang jedoch die Lösung der zweiten Aufgaben mit Hilfe des Paraboloidkondensors von Zeiß, der mir für diese Zwecke den anderen ähnlichen Instrumenten überlegen scheint.

Als ich jedoch zur systematischen Untersuchung meiner mikroskopischen Präparate mittels dieses Verfahrens schritt, mußte ich erkennen, daß der richtige Weg wohl gefunden war, daß es aber noch mancher Arbeit bedurfte, um ihn auch bis zum Ziele gangbar zu machen. Das Ziel mußte aber, wie bereits bemerkt, unter allen Umständen sein, einerseits den störenden schädlichen Einfluß des Protoplasmas für die Untersuchung nach Möglichkeit zu beseitigen, andererseits auch die feinen und feinsten Silberablagerungen im Gewebe wahrnehmbar zu machen.

Naturgemäß erscheint bei der Untersuchung im Dunkel-

feld das tierische Gewebe hell. Meine Versuche durch Behandlung mit chemischen Reagenzien, Kalilauge oder Salzsäure, das Protoplasma weniger hell erscheinen zu lassen, haben zu keinem Resultate geführt. Es ist Tatsache, daß nur solche Gebilde im Dunkelfelde hell erscheinen, die einen anderen Brechungsindex haben als das umgebende Medium. Ich habe deshalb versucht, ein Einbettungsmittel zu finden, das ein ähnliches Brechungsvermögen besitzt wie das Protoplasma, obgleich ich mir bewußt war, daß es sich bei dem mikroskopischen Schnittpräparat ja keinesfalls um eine durchaus gleichmäßige Substanz handelte. Auch diese Versuche haben zu keinem befriedigenden Resultate geführt; weder Formalingelatine noch Eiweißglycerin konnten die Helligkeit des Gewebsschnittes bei der Dunkelfeldbetrachtung nennenswert herabsetzen. Die Versuche, Zelloidin als Einbettungsmasse für die Blöcke zu verwenden, der bestimmte Substanzen zugesetzt werden, sind noch nicht abgeschlossen. Außerdem besteht aber die Gefahr, daß durch das Verwenden anderer kolloidaler Substanzen zur Einbettung noch künstlich kleine Teilchen dem Präparate beigemengt werden. Die außerordentlich große Empfindlichkeit der Dunkelfelduntersuchungsmethode gegen irgendwelche Verunreinigungen des Präparates stellt eine weitere Schwierigkeit dar, die um so größer ist, als es sich bei unseren Untersuchungen ja nicht darum handelt, eine Gewebsstruktur oder ähnliches kennen zu lernen, sondern über Verteilung und Lokalisation kleinster Partikelchen im Gewebe Aufschluß zu erhalten, die sich fast nur durch ihre Fähigkeit, das Licht diffus zu reflektieren, bemerkbar machen.

Da es nicht gelang, durch irgendwelche Einwirkung auf die Schnitte, das Protoplasma im Dunkelfeld weniger hell erscheinen zu lassen, mußte man danach streben, die Untersuchungsbedingungen so zu gestalten, daß sich das Protoplasma möglichst wenig störend geltend machte. Das einfachste Mittel hierzu war, statt der für die sonstige Dunkelfeld- resp. ultramikroskopische Untersuchung empfohlenen starken Lichtquelle eine wesentlich schwächere zu wählen, die zwar genügte, um die kleinen Metallpartikelchen leuchtend erscheinen zu lassen, das Protoplasma aber mehr zurücktreten ließ. Hierfür ist nach meinen Erfahrungen diffuses Tageslicht oder

eine mattierte 50kerzige Metallfadenlampe am besten geeignet; Gasglühlicht ist schon reichlich stark, so daß man durch eine Mattscheibe abblenden muß. Nicht unvorteilhaft für die Beobachtung, für die Mikrophotographie im Dunkelfeld aber unbedingt zu empfehlen ist das Zwischenschalten von Farbenfiltern zwischen Lichtquelle und Paraboloidkondensor.

Eine weitere Schwierigkeit der Dunkelfelduntersuchung von Schnittpräparaten liegt, wie bereits bemerkt, in Verunreinigungen der Schnitte oder der sie umgebenden Medien. Die letzteren lassen sich allerdings durch ein peinlich sauberes Arbeiten ziemlich ausschalten: Die neuen Deckgläser und Objektträger müssen zunächst mit Alkohol abgerieben und dann in konzentrierter Salpetersäure gekocht werden; nach Abspülen mit destilliertem Wasser hebt man sie am besten in filtriertem Alkohol auf. Alle für die Behandlung der Präparate in Frage kommenden Flüssigkeiten müssen immer wieder durch sorgfältiges Filtrieren von Verunreinigungen befreit werden, der Kanadabalsam muß von Zeit zu Zeit im Dunkelfeld auf seine Reinheit geprüft werden. Verunreinigungen der Schnittpräparate selber zu verhüten, ist wesentlich schwieriger. Die Gewebe können mannigfaltige Niederschläge enthalten, so zum Beispiel, wenn sie nicht unmittelbar nach dem Tode des Tieres eingelegt worden sind, Ablagerungen aus dem fixierenden Formalin. Auch andere, durch normales oder pathologisches Funktionieren des betreffenden Organes bedingte Niederschläge können bei der Dunkelfelduntersuchung recht störend wirken. Schließlich ist noch einer Form der Verunreinigung des Präparates zu gedenken, die dadurch entsteht, daß die im Gewebe abgelagerten Metallteilchen durch die Klinge des Mikrotoms verschoben werden, wie es nach meinen Beobachtungen zuweilen bei gröberen Niederschlägen geschieht. Kann man nun die ersteren Niederschläge durch vorsichtiges Behandeln der Schnitte mit warmem Wasser, Alkohol, Terpentin, Salzsäure oder Kalilauge zum Verschwinden bringen, so kann man sich natürlich gegen die letztere Form von Verunreinigungen nicht schützen. Hier kann nur die vergleichende Betrachtung einer Reihe aufeinander folgender Schnitte vor Täuschung bewahren. Die Ablagerungen des injizierten kolloidalen Metalls im Gewebe sind als solche sehr leicht zu erkennen,

da sie eben nur auf Zusatz des spezifischen Lösungsmittels, für unsere Versuche $^1/_2$ $^0/_0$ige Cyankaliumlösung, verschwinden.

Das ideale Hilfsmittel für die Untersuchungen im Dunkelfeld ist die Mikrophotographie[1]) (Fig. 1 u. 2). Diese läßt uns einwandfreie Bilder gewinnen, die einen doppelten Wert haben: wir können jederzeit die Hell- und Dunkelfeldaufnahmen desselben Präparates miteinander vergleichen, und können außerdem die Zahl der Niederschläge bestimmen und sogar in ihrer Größe miteinander vergleichen, wobei jedoch zu bedenken ist, daß eine Messung des Durchmessers der Diffraktionsbilder Werte liefert, die in jeder Hinsicht nur relative Größen darstellen und keinerlei Rückschlüsse auf die wirkliche Größe des lichtabbeugenden Partikelchens gestatten.

Selbstverständlich werden die Dunkelfelduntersuchungen um so exaktere Resultate liefern, je feiner die zur Betrachtung vorliegenden Schnitte sind, da eine dickere Gewebsschicht die feinsten Teilchen nicht hervortreten läßt. Deshalb sind Schnitte, deren Dicke unterhalb 10 μ bleibt, zu bevorzugen.

Man ist immer wieder erstaunt, wieviel feinste leuchtende Partikelchen in manchen Organschnitten bei der Dunkelfelduntersuchung erkennbar werden, deren Vorhandensein bei der Beobachtung im Hellfeld nichts verriet. Ungefärbte Schnitte sind für diese Untersuchungsmethode im allgemeinen vorzuziehen, doch kann man gefärbte zur Orientierung und zum Lokalisieren der einzelnen Ablagerungen nicht ganz entbehren. Es braucht wohl nicht extra darauf hingewiesen zu werden, daß man sich zur Färbung nicht kolloidaler Farbstoffe bedienen darf und alle oben angeführten Vorsichtsmaßregeln beachten muß.

Das Material zu den mikroskopischen Untersuchungen lieferten 8 Kaninchen, die verschiedene Silberhydrosole intravenös injiziert erhalten hatten. Die Obduktion wurde stets sofort nach dem Töten der Tiere vorgenommen und von den interessierenden Organen Gewebsstücke in 10 $^0/_0$ iger Formalinlösung fixiert, die dann in der üblichen Weise weiterverarbeitet wurden. Das von den beiden ersten Versuchstieren stammende Material für die Schnitte wurde fast vollkommen für das Ausarbeiten

---

[1]) Die beigefügten Abbildungen mögen eine Vorstellung von ihrer Leistungsfähigkeit geben.

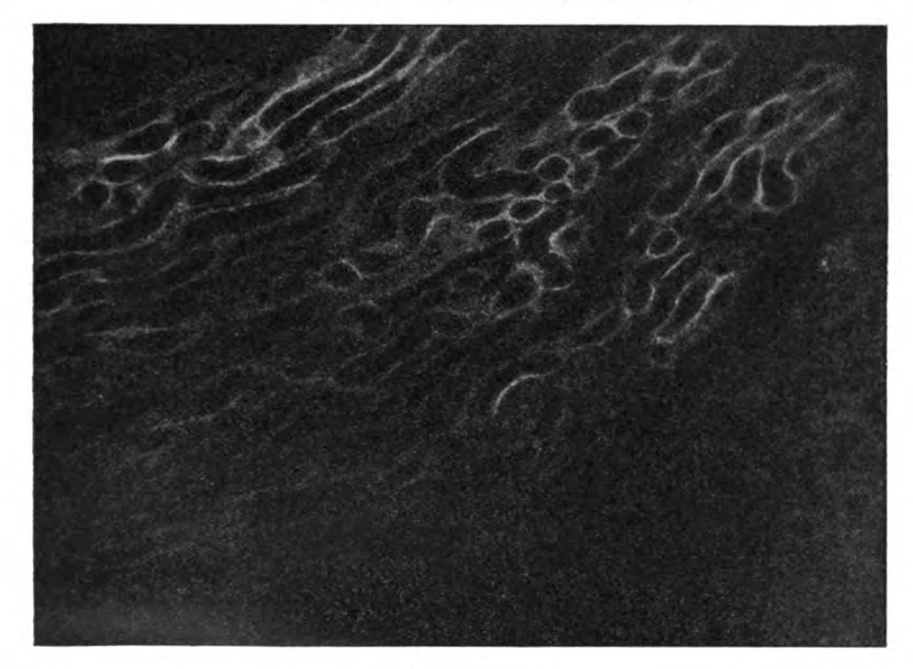


Fig. 1.

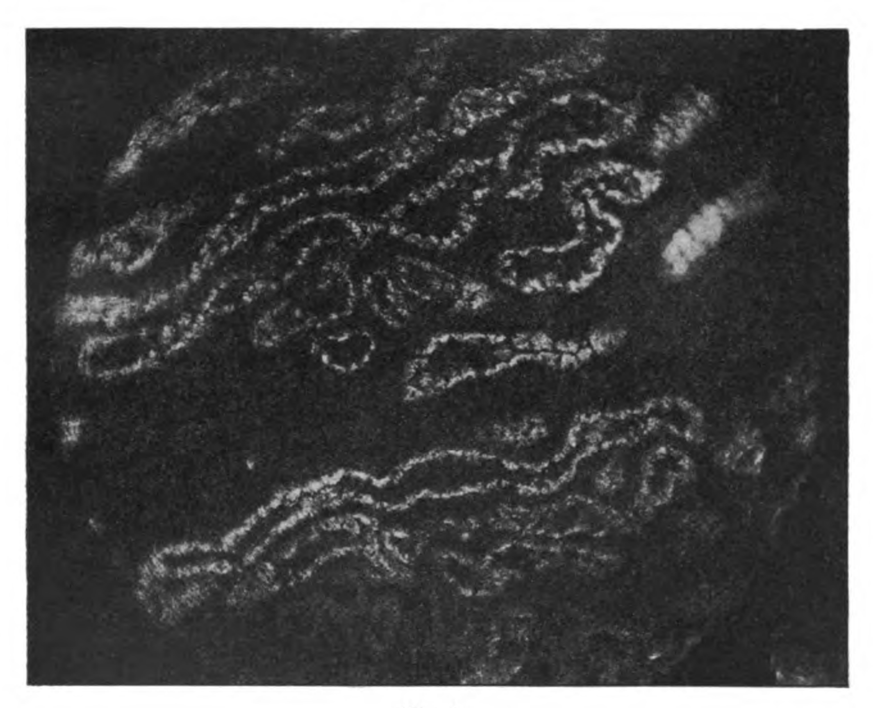


Fig. 2.

der Dunkelfeldmethode verbraucht; ich konnte deshalb einzelne Kontrollen, die bei der verbesserten Technik möglich sind, auf sie nicht ausdehnen. Es scheint mir dies aber ziemlich unwichtig zu sein, da gerade mit diesem Material weit mehr Versuche angestellt worden sind, als mit von irgendeinem anderen Versuchstiere stammendem. Die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchungen sollen hier wie bei allen Versuchen der Einfachheit wegen möglichst in Form von Tabellen gegeben werden. Manche Einzelheiten, die an sich interessant sind, müssen hier fortgelassen werden, um nicht zu ausführlich zu werden; sie müssen einer mit Mikrophotographien ausgestatteten Monographie vorbehalten bleiben. Als vorteilhafteste Einteilung der Tabelle wurde eine solche gewählt, die sowohl die angewandte Vergrößerung wie auch die Untersuchungsmethode Hellfeld- oder Dunkelfelduntersuchung berücksichtigte nach dem Schema:

1. Hellfeld.	2. Dunkelfeld.
a) schwache u. mittlere } Vergr.	a) schwache } Vergr.
b) stärkere u. stärkste } Vergr.	b) stärkere bis stärkste } Vergr.

1. Tierversuch (Kaninchen Nr. 2).

Ein 2650 g schweres Kaninchen erhielt von einer 0,66 %-igen stabilisierten nichtisotonischen Collargollösung 10 ccm in die Ohrvene injiziert und, als sich innerhalb einer Stunde nach der Einspritzung keinerlei Störungen des Allgemeinbefindens zeigten, nochmals 10 ccm. Nach drei weiteren Stunden, während welcher sich das Tier ganz wohl zu fühlen schien, wurde es durch Ausbluten mit Durchspülen des Organismus mit Ringer-Lösung getötet. Bei der sofort ausgeführten Obduktion fiel zunächst die ausgesprochen schwarze Färbung von Leber und Milz auf; ferner bemerkte man ein mäßiges Quantum flüssigen Blutes in der Bauchhöhle, welches aus einem etwa 1 cm langen Querriß auf der Unterfläche der Leber zu stammen schien. Beim Herauslösen dieses Organes fiel seine ungewöhnliche Brüchigkeit auf, die eben die Ursache für den Riß abgegeben haben muß, der wohl beim Aufbinden und Ausbluten des Tieres zustande gekommen sein wird. Herz, Nieren, Lungen und Darm wiesen makroskopisch keine Abweichungen von der Norm auf, dagegen war das Knochenmark in den langen Röhrenknochen deutlich dunkler, schwarzbraun gefärbt. Von

den zur mikroskopischen Untersuchung entnommenen Gewebsteilen sind durch ein Versehen bei der Verarbeitung die Stücke von Nebenniere und Darm verloren gegangen. Die anderen wurden nach der üblichen Fixierung in 10%iger Formalinlösung und Härtung in Alkohol von steigender Konzentration in Paraffin eingebettet und in 0,01 mm starke Schnitte zerlegt; diese wurden dann teils ungefärbt, teils mit Hämatoxylin gefärbt untersucht. (Falls bei den folgenden Versuchen nichts anderes angegeben ist, sind die Präparate in gleicher Weise vorbehandelt worden.) Von der Prüfung der gefundenen Niederschläge mit Kalilauge und $^1/_2\%$iger Cyankaliumlösung wurde in diesem Versuch bei allen Organen Gebrauch gemacht, bei den späteren dann, wenn keine Analogie mit den Befunden dieses Versuches bestand. Die an den verschiedenen Organen gemachten Beobachtungen folgen jetzt hier nach dem bereits oben angegebenen Schema angeordnet.

	I.	II.
Leber	a) In den Lobulis zahlreiche schwarze radiär angeordnete Niederschläge, die an der Peripherie jedes einzelnen am zahlreichsten, nach dem Zentrum zu an Zahl immer mehr abnehmen. b) Diese Ablagerungen finden sich fast ausschließlich in den Sternzellen; sie bestehen aus kleinen, locker aneinandergefügten Flocken, die ihrerseits aus kleinsten Teilchen zu bestehen scheinen. An einzelnen Stellen scheint es sich jedoch auch um zusammengeballte Teilchen in Capillaren zu handeln, die das Lumen verstopfen, ohne von Zellen umschlossen zu sein (Emboli). An einzelnen Punkten scheinen die schwarzen Teilchen auf den Sternzellen zu liegen, was wie die Emboli dafür sprechen würde, daß sie schon im kreisenden Blute ausflocken und von den Sternzellen als Fremdkörper aufgenommen werden.	a) Die von den Sternzellen umschlossenen Niederschläge strahlen in silberweißem Lichte, die Verzweigungen der Sternzellen treten deutlich hervor (S.). Die als Emboli anzusprechenden Ablagerungen geben meist ein mehr goldiges Licht (S.). b) Man erkennt die Gruppierung der Silberteilchen in den Sternzellen sehr schön, findet aber außerdem in den Leberzellen zahlreiche kleinste, schwach blauweiß schimmernde Pünktchen (S.), die zuweilen als einzelne Punktreihen auftreten. Von den letzteren hat man oft den Eindruck, als ob sie in der Längsrichtung der Leberzellsäulen auf den einzelnen oder mehreren Zellen hinzöge, vielleicht dem Verlauf einer Gallencapillare entsprechend.

	I.	II.
Lunge	a) u. b) In den Capillaren findet man in mäßiger Zahl Ansammlungen von schwarzen Teilchen, anscheinend in Leukocyten.	a) Die mit Ia und b sichtbaren Teilchen strahlen in silberweißem, nur hier und da etwas gelblichem Lichte (S.). b) Außerdem erkennt man noch zahlreiche allerkleinste Teilchen in Leukocyten, von denen ein bläulichweißes Licht ausgeht, die im Hellfeld verborgen bleiben.
Niere	a) Einzelne schwarze Gebilde finden sich hier und da in den Glomerulis. b) Diese füllen anscheinend die Capillare vollständig aus und sind wohl als Emboli zu betrachten, wenn auch infolge des eigenartigen Gefäßverlaufes die typische Form des Embolus nur selten zutage tritt. In den zwischen den einzelnen geraden Harnkanälchen verlaufenden Gewebsspalten sieht man hier und da braun durchscheinende, körnige Ablagerungen.	a) Die Ablagerungen in den Glomerulis strahlen helles gelbweißes Licht aus (S.). b) Die zwischen den Harnkanälchen gelegenen Körnchen geben weniger hellen Schein (S.); außerdem aber sieht man die Epithelien verschiedener gerader und gewundener Harnkanälchen in ganz mattem Licht schimmern (die Silberprobe erscheint bei dem schwachen Schein nicht ganz zuverlässig), ohne daß jedoch einzelne Teilchen erkannt werden konnten.
Milz	a) Zahlreiche Niederschläge konzentrisch um die Follikel, die selber frei bleiben, angeordnet. b) Unterscheidung der Ablagerungen in 1. schwarze, die aus locker zusammengeballten flockigen Massen bestehen und die verschiedensten Formen haben, und 2. in weniger zahlreiche grobschollige Gebilde von durchscheinend brauner Färbung und mehr oder weniger runder Form. Sie scheinen intracellulär gelegen zu sein (Phagocytose), während die schwarzen Niederschläge wohl einfach ausgeflockt und hängen geblieben sind.	a) Deutlicher Unterschied der Ib beschriebenen Gebilde: 1. vielgestaltige gelblich-weiß leuchtende Niederschläge (S.) umgeben als wirres Netzwerk die Follikel, dazwischen eingestreut 2. rotgolden glänzende Brocken (S.). b) Bei den Ia beschriebenen Ablagerungen kann man ihre Zusammensetzung aus Massen sehr kleiner leuchtender Teilchen erkennen, bei den anderen nicht. Man findet außerdem noch eine große Menge allerfeinster bläulich-silbern schimmernder Pünktchen, die mit Ib nicht sichtbar waren; diese liegen nicht nur im retikulären Gewebe, sondern finden sich auch in den Follikeln (S.).

2. Tierversuch (Kaninchen Nr. 3).

Ein 2580 g schweres Kaninchen erhielt innerhalb einer Stunde 80 ccm derselben 0,66%igen Collargollösung in die Vena jugularis infundiert. Während der Infusion wurde ein Temperaturabfall um 1,4° beobachtet, der dann allmählich wieder ausgeglichen wurde. Etwa 3 Stunden nach der Injektion wurde das Tier stiller, ohne daß jedoch Atemstörungen oder Krämpfe zur Beobachtung kamen. Das Tier wurde 4 Stunden nach der Injektion durch Ausbluten mit nachfolgendem Durchwaschen des Körpers mit Ringer-Lösung getötet. Bei der sofort vorgenommenen Obduktion fand man, wie beim vorhergehenden Versuch, Blut in der Bauchhöhle, das einem Riß auf der Unterfläche der Leber entstammte. Die Leber selber wies eine ganz ungewöhnliche Brüchigkeit auf; ihre Farbe war, wie bei Versuch 1, tiefschwarz. Auch die Milz hatte eine ausgesprochen schwarze Farbe, ohne aber eine Änderung ihrer Konsistenz zu zeigen. Im Gegensatz zum vorigen Versuch waren die Nieren hier stark hyperämisch, ließen aber auf dem Durchschnitt keine weiteren Veränderungen erkennen. Die Lungen wiesen eine ausgedehnte Schwarzfärbung auf, waren jedoch von Ödem frei. Der Darm erschien im ganzen etwas hyperämisch, besonders fiel eine stärker injizierte Partie auf, die etwa 20 cm vom After begann und sich 12 cm nach demselben hin erstreckte. Als besonders auffallender Befund muß notiert werden, daß nicht nur in den großen Röhrenknochen, sondern in allen untersuchten Knochen das Mark tiefschwarz gefärbt war. Besonders schön war diese Färbung an den Rippen, Wirbeln und der Schädelbasis.

Zur mikroskopischen Untersuchung wurden Gewebsstücke aus Leber, Lunge, Niere, Milz, Dünn- und Dickdarm entnommen. Zwei vor der Weiterverarbeitung entkalkte Rippen ergaben so unklare Bilder, daß dieselben nicht brauchbar waren. Die Verarbeitung der Gewebsteile war die auch bei dem 1. Versuch gewählte.

Die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung sind im wesentlichen folgende:

	I.	II.
Leber	a) Sehr zahlreiche und voluminöse Niederschläge in der Leber, radial zum Zentralgefäß	a) Wie bei Nr. 1. b) Neben den größeren konglomeraten lichtbeugenden Teil-

	I.	II.
	verlaufend, dessen Umgebung sich hier nicht von dem übrigen Lebergewebe unterscheidet; das Gefüge der Leberelemente erscheint im ganzen aufgelockert. b) Neben den Ablagerungen in den Sternzellen viel Emboli, außerdem auch anscheinend frei an der Wand haftende Flocken.	chen sehr viel kleine, die auf Strecken hin die Capillarwand als leuchtende Punktreihen bedecken, oder in dieselbe aufgenommen sind.
Lunge	a) Massenhafte schwarze Emboli. b) Außerdem auch im Gewebe verstreut einzelne Leukocyten mit schwarzen Teilchen. Hier und da auch auf oder im Capillarendothel schwarze Körner, auch in größeren Gefäßen.	a) Die Emboli zeigen nur eine goldrotleuchtende Randzone, im übrigen sind sie dunkel. b) In Leukocyten und Endothel massenhaft feinste silberglänzende Teilchen.
Nieren	a) Kernfärbbarkeit schlechter wie beim vorigen Versuch. Viel Niederschläge (Emboli?) in den Glomerulis. b) In den Spalträumen zwischen den Harnkanälchen einzelne kleinere schwarze Gebilde, außerdem das Epithel derselben vielfach, vielleicht durch Blutfarbstoff (Hämolyse bei 80 ccm nicht isot. Lösung!) braun gefärbt und getrübt.	a) Wie bei Nr. 1. b) Neben den Ib beschriebenen sieht man noch zahlreiche feinste bläulich-weiß schimmernde Teilchen nach außen von den Spalträumen, vielleicht in der Membrana propria der Harnkanälchen.
Milz	a) u. b) Wie Nr. 1.	a) Wie im vorigen Versuch. b) Ebenso, außerdem aber in den Randpartien der Follikel vielfach in Kreisen angeordnet allerfeinste blau-weiß schimmernde Teilchen.
Dünndarm	a) Nichts Besonderes. b) In einzelnen Follikeln enthalten fast alle Leukocyten einzelne schwarze Teilchen, auch in den Schleimhautgefäßen hier und da schwarze Flocken. In den Epithelien erscheinen bisweilen am Kern vereinzelt schwarze Teilchen, dann wieder auf Strecken fast in jeder Zelle.	a) u. b) Alle unter I beobachteten schwarzen Teilcheu stark lichtbeugend, stellenweise die ganzen Zotten, teilweise war nur das Stroma ohne die Epitheldecke mit ihnen besetzt.

	I.	II.
Dickdarm	a) u. b) Im wesentlichen dem Befund am Dünndarm gleich.	a) u. b) Sonst wie im Dünndarm, nur fehlen die leuchtenden Teilchen im Epithel fast vollständig.
Rippen	a) u. b) In den geschwärzten Teilen sind keine Teilchen zu erkennen, vgl. II.	a) u. b) Die zum Verarbeiten notwendige Vorbehandlung (Entkalken) hat wohl ungünstig eingewirkt; man bekommt von dem schwarzen Zentrum der Schnitte nur einen diffusen weißlichen Schein, kann keine Einzelteilchen erkennen.

3. Tierversuch (Kaninchen Nr. 4).

Ein 2870 g schweres Kaninchen erhielt an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 10 ccm, am dritten 20 ccm der 0,66 $^0/_0$igen Callargollösung in die Ohrvene injiziert. Am Abend des vierten Tages erschien das Tier etwas schlaff, ohne daß jedoch eine abnorme Körpertemperatur bestand; es wurde um 9 Uhr abends getötet und sofort obduziert. Während der 4 Tage im Beobachtungskäfig hat das Tier, wie es häufig der Fall ist, keinmal spontan Urin gelassen; die Blase mußte durch Druck von außen entleert werden. Der so gewonnene Urin wurde jedesmal auf Eiweiß und Zucker untersucht, jedoch immer ohne positives Resultat. Bei der Sektion fand sich zunächst im großen Becken ein älterer Bluterguß von etwa Haselnußgröße, außerdem aber an der konkaven Fläche der Leber ein frischer, reichlich pflaumengroßer. Da bei diesem Versuchstier jede äußere Gewalteinwirkung ausgeschlossen war, ein Durchspülen des Gefäßsystems mit Ringer-Lösung nicht gelungen war, so erscheint dieser Befund für das Erkennen der Silberwirkung nicht ohne Interesse. Die Leber selber war tiefschwarz gefärbt, wie in Versuch 1 und 2, und wies auf ihrer Unterseite einen ca. $1^1/_2$ cm langen oberflächlichen Riß auf, dem jedenfalls die Blutungen entstammten. Die Milz hatte nach dem Hilus zu ihre normale Färbung, war sonst aber schwarz. Eine so deutliche Schwarzfärbung des Knochenmarkes, wie beim vorigen Tiere, war bei diesem nicht zu erkennen. Die Niere zeigte auf dem Durchschnitt der Rindenpartie entsprechend ein glasiges Aussehen und eine graue Verfärbung; die Nebennieren waren

im Zentrum statt gelbbraun hier mehr grau gefärbt. Die linke Lunge war im mittleren Lappen ziemlich stark injiziert, sonst ebenso wie die rechte deutlich grau verfärbt. Am Dünndarm fand man keine Abweichung von der Norm, im Dickdarm eine fleckige starke Injektion. Die Ovarien wiesen zahlreiche reife Follikel auf, schienen aber sonst normal. Zur mikroskopischen Untersuchung wurden Teile von Leber, Lunge, Niere, Nebenniere und den Ovarien entnommen und wie gewöhnlich verarbeitet.

	I.	II.
Leber	a) In den Sternzellen fast überall mehr oder weniger zahlreich schwarze Niederschläge, jedoch keine deutlichen Emboli in den Capillaren. b) Sternzellen meist, jedoch nicht so gleichmäßig wie bei Nr. 1 u. 2, mit schwarzen Teilchen, die jedoch kleiner und nicht so flockig erscheinen! Zuweilen aufgetrieben, ins Lumen vorspringend.	a) Wie Nr. 1, jedoch nirgends Silberemboli. b) In den Sternzellen viel lichtbeugende Teilchen, außerdem feine, matter leuchtende in den Leberzellen; Capillarwände stellenweise mit sehr kleinen leuchtenden Pünktchen (S.).
Lunge	a) u. b) Viel schwarze Punkte fast durchweg wohl in Leukocyten; auch in größeren Gefäßen, jedoch nicht im Endothel.	a) u. b) Massenhaft rundliche Anhäufungen von feinen lichtbeugenden Teilchen in Leukocyten. Sehr deutliches Bild (S.).
Nieren	a) In den Glomerulis einzelne gröbere schwarze Ablagerungen. Nierenepithelien stellenweise stark vergrößert, gequollen (?). Protoplasma trübe. b) Protoplasma der Epithelien vieler gerader und gewundener Harnkanälchen getrübt, darin sind einige Einzelteilchen erkennbar! Zwischen den Harnkanälchen schwarze oder braundurchscheinende Niederschläge von verschiedener Form und Größe.	a) Außer den Ablagerungen in den Glomerulis sind die Harnkanälchen mit den trüben Epithelien als hell leuchtende Streifen gegen die Umgebung sichtbar. b) Ihr Epithel ist angefüllt mit Massen feiner und gröberer silberglänzender Teilchen. Verschiedene Helligkeit der verschiedenen Harnkanälchen nach dem Gehalt der Zellen an lichtbeugenden Teilchen und nach deren Größe (S.). Außerdem zahlreiche Ag-Partikelchen zwischen den Harnkanälchen (S.). Vgl. Fig. 1.

	I.	II.
Nebennieren	a) u. b) Zwischen den Kolonnen der Rindenzellen gröbere schwarze Niederschläge, außerdem an den Zellrändern feinere. Verteilung der Niederschläge vom Zentrum bis mittleren Drittel stark an Menge zunehmend, dann nach der Oberfläche wieder etwas weniger werdend.	a) Alle Ablagerungen lichtbeugend. b) Die feineren meist zu runden Flecken gruppiert, wohl in Leukocyten eingeschlossen (S.).
Milz	a) u. b) Anordnung der Niederschläge wie bei Nr. 1, doch häufig runde Gruppen, wohl in Leukocyten.	a) Wie Nr. 1. b) Feinste lichtbeugende Teilchen in Reihen anscheinend Flächen bekleidend.
Ovarium	a) Keine Niederschläge. b) In den Zellen der Theka int. bei reifenden Follikeln einzelne schwarze Teilchen, außerdem hier und da im Stroma.	a) Die Ablagerungen in den Thekazellen (I b) sind hell, weißgelblich leuchtend. b) Außerdem hier noch viele allerkleinste bläulich-weiß schimmernde Pünktchen. In der Theka ext.! strichweise angeordnete ebensolche Teilchen. Desgleichen folgen diese leuchtenden Pünktchen dem Verlauf stärkerer Bindegewebszüge bis zwischen die epithelialen Elemente des Eierstockgewebes.

4. Tierversuch (Kaninchen Nr. 5).

Ein sehr starkes Kaninchen von 4250 g Gewicht erhielt von der Collargollösung intravenös 5 ccm am 16. und 17. VII., darauf 4 Tage ausgesetzt, weil das Tier schlecht fraß; vom 22. bis 29. dann noch viermal 5 ccm. Acht Tage nach der letzten Injektion wurde das Tier getötet und sofort obduziert. In Pleura- und Peritonealhöhle fand sich eine mäßige Menge klares Exsudat, das innerhalb kurzer Zeit $^1/_3$ seines Volumens als glasklares Gerinnsel ausschied. Die Leber war dunkelockergelb mit deutlicher Zeichnung, nicht brüchiger als normal, die Milz ungewöhnlich groß, $7^1/_2$ cm lang, sehr derb, etwas dunkler als normal. Die Nieren zeigten auf dem Durchschnitt eine dunkelbraune Randzone, darauf eine dunkelolivgrüne, dann eine speckigweiße und eine olivgrüne Papille. Lunge, Dünndarm, Dickdarm und Nebennieren hatten ein nor-

males Aussehen. Zur mikroskopischen Untersuchung wurden Stücke von Leber, Lunge, Niere, Nebenniere und Milz entnommen.

	I.	II.
Leber	a) Schwarze in Sternzellen liegende Teilchen fehlen fast vollständig, dagegen reichlich rundliche Ansammlungen von körnigen Massen, die braun durchscheinen, anscheinend in Gefäßbahnen. b) In Sternzellen einzelne schwarze Körnchen, in den anderen Ablagerungen ebenfalls, außerdem viel kleine **braune** Teilchen. In den Capillaren kleine, die Wand tapezierende Körnchen.	a) Nur in wenigen an normaler Stelle liegenden Sternzellen nimmt man einzelne leuchtende Punkte wahr. Leberzellen mit matten lichtaussendenden Körnchen angefüllt (S.), außerdem die groben Ablagerungen silbern bis goldrot glänzend (S.). b) Die Spalträume sind streckenweise mit feinen, stark leuchtenden Pünktchen besetzt, solche umgeben auch in größeren Pfortaderästen das Lumen. In den Sternzellen mehr Teilchen, wie im durchfallenden Licht erkennbar (S.), doch füllen sie keineswegs dieselben so aus, wie bei Nr. 1 und 2.
Lunge	a) und b) Vielleicht etwas weniger Niederschläge wie im vorigen Versuch; Anordnung und Verteilung im Gewebe dieselbe.	a) Wie Nr. 3. b) Die einzelnen Teilchen sind in den Leukocyten weniger dicht zusammen, vielleicht auch kleiner, und geben ein silberweißes Licht.
Nieren	a) Protoplasma der Nierenepithelien stellenweise trübe, keine nennenswerten Niederschläge in den Glomerulis, jedoch in den Spalträumen zwischen den Harnkanälchen zahlreiche kleine schwarze Teilchen. b) Membrana propria stellenweise bräunlich gefärbt, je näher nach der Papille zu, desto häufiger und intensiver.	a) Aus der Masse der dunklen Harnkanälchen treten einzelne hervor, die von einem bläulichweiß strahlenden Schleier umgeben scheinen. Zwischen den Harnkanälchen die I. a) beschriebenen Niederschläge hell glänzend. b) Der hellblaue Schleier ist durch die Membrana propria bedingt, die auch an Längs- und Schrägschnitten der Harnkanälchen, bis zur Papille vielfach als dünner, hellblau leuchtender Streifen erkennbar ist. Einzelteilchen sind in ihr selbst mittels der Ölimmersion nicht zu erkennen (S.). Vgl. Fig. 2.

	I.	II.
Nebennieren	a) Nichts Besonderes. b) Einzelne bald schwarze, bald braun durchscheinende Punkte zwischen den Kolonnen der Rindenzellen.	a) und b). Die mit I. beobachteten Ablagerungen sind stark lichtbeugend, außerdem noch zahlreiche andere wahrnehmbar; sie bestehen aus meist rundlichen Ansammlungen sehr kleiner lichtbeugender Punkte. Leukocyten? (S.).
Milz	a) Große rundliche, braune Gebilde, ähnlich den in der Leber beobachteten, weniger schwarze Teilchen, diese ohne die sonst charakteristische konzentrische Anordnung um die Follikel. b) Außerdem noch feinere schwarze Punkte, aber weniger wie im Versuch 3.	a) Alle mit I. beobachteten Niederschläge sind lichtbeugend, von weißer bis zu rotgoldener Farbe. b) Neben den mit I. b) erkennbaren Teilchen, die weiß glänzen, noch sehr viele allerkleinste, die oft zu kurzen Ketten angeordnet sind (S.).
Ovarium	a) Wenig schwarze Teilchen in der Theka int., dagegen reichlicher in den starken Bindegewebszügen. b) Reichliche schwarze Teilchen in einem frischen Corpus luteum und zwei etwas ältere.	a) Die mit I. a) und b) beobachteten Teilchen stark lichtbeugend; besonders schön dem Verlauf der Bindegewebszüge folgend. b) Menge der leuchtenden Teilchen viel größer, auch solche zu kleinen Gruppen vereinigt in der Theka int. zweier reifender Follikel, ja sogar innerhalb zweier in ihnen befindlicher Eier, die beide mit I. b) durchaus normal und gut erhalten aussehen. Es liegt am nächsten anzunehmen, daß Leukocyten mit Silberteilchen beladen dort eingewandert sind, obgleich solche sonst in den Ovarialschnitten n i c h t deutlich in größerer Zahl zu finden waren.

5. Tierversuch (Kaninchen Nr. 8).

Ein Kaninchen von knapp 1500 g Gewicht erhielt intravenös 10 ccm eines 0,25 %igen Silberhydrosols, das aus dem kolloidalen Silber gez. DDr. R. & Sch. hergestellt worden war. Der Hauptzweck dieses Versuchs war, zu prüfen, ob ein anderes kolloidales Silber, als das in den vorhergehenden Versuchen

angewendete, nach intravenöser Injektion andere Bilder lieferte, als die in den Versuchen 2 und 3 beschriebenen. Da, wie im ersten Abschnitt mitgeteilt, der Lineardurchmesser der Einzelteilchen bei diesem Präparat besonders klein war, das Präparat sich auch sonst in mancher Hinsicht von dem Collargol unterschied, war eine dahingehende Untersuchung wünschenswert.

Zwanzig Stunden nach der Injektion wurde das Tier durch Nackenschlag getötet und sogleich obduziert. Wie bei Versuch 2 und 3 waren Leber und Milz auch hier kohlschwarz gefärbt, Lungen, Nieren und Nebennieren wiesen makroskopisch keine Abweichung vom Normalen auf. Die von diesen Organen entnommenen Gewebsteile wurden in der üblichen Weise verarbeitet.

	I.	II.
Leber	a) Feine schwarze Niederschläge, die als radiär verlaufende, hier und da unterbrochene Streifen zur Zentralvene ziehen. b) Dieselben begrenzen die zwischen den Leberzellbalken verlaufenden Spalträume und bestehen aus gleichmäßig großen rundlichen schwarzen Teilchen, die locker nebeneinander gelagert sind. Der Ort der Ablagerung scheinen hier nicht ausschließlich die Sternzellen zu sein; hier und da sind die Lumina durch lange einfache Punktreihen begrenzt, die auf oder in den Endothelien zu liegen scheinen und die bisher beobachteten Ausläufer von Sternzellen an Länge übertreffen, auch mit diesen Zellen nicht in Verbindung stehen.	a) Die Leberstruktur wird durch die Streifen lichtbeugender Teilchen schön charakterisiert. b) Die Sternzellen sind mit ihren Verzweigungen schön sichtbar und es heben sich die Zellkörper diesen gegenüber durch die Anordnung der Teilchen in mehreren Reihen gut hervor, außerdem sind wohl eine Zahl von lb. Teilchen in oder auf dem Endothel (vgl. I. b). In den Leberzellen selber erkennt man erst jetzt feinste lb. Punkte, doch nicht in solcher Zahl, wie in einigen früheren Versuchen. Außerdem ist beachtenswert, daß hier in den größeren Gefäßen zwischen den roten Blutkörperchen lichtbeugende Teilchen enthaltende Leukocyten zu erkennen sind, doch vermag $^1/_2\,^0/_0$ige Cyankalilösung diese Teilchen nicht zum Verschwinden zu bringen.
Lungen	a) Keine Emboli. b) Einzelne Leukocyten mit feinen schwarzen Teilchen im Innern.	a) und b) In den Gefäßen und im Lungengewebe massenhafte rundliche Anhäufungen feinster lb. Teilchen, offenbar in Leukocyten.

	I.	II.
Niere	a) und b) Keine Ablagerungen, keine deutliche Veränderung der Epithelien oder der Propria.	a) In den ungefärbten Schnitten im Gewebe, nie im Lumen, meist rundliche Gebilde, die matt silberweiß schimmern; außerdem hier und da vereinzelt bläulichweiße Streifen, anscheinend dem Epithel entsprechend. b) Die rundlichen schimmernden Gebilde sind zwar hier und da in Reihen mit ziemlich großen Zwischenräumen angeordnet, entsprechen aber nicht den Kernen des Epithels, man erkennt jetzt auch viel derartige von mehr länglicher Form, vielleicht Leukocyten. Außer den oben erwähnten Streifen finden sich noch ganz feine, schwach leuchtende Linien an der Basis des Epithels (Propria?). Einzelteilchen sind nirgends wahrnehmbar. Alles verschwindet auf Zusatz von Cyankali.
Milz	a) und b) Konzentrisch um die Follikel angeordnete Niederschläge wie in Vers. 1.	a) und b) Lichtbeugend in verschiedener Färbung und Intensität, daneben noch zahlreiche feinste Teilchen, wie in Versuch 1.
Nebennieren	a) Keine Ablagerungen außer einigen braun durchscheinenden scholligen Gebilden in der Marksubstanz. b) Zona glomerulosa keine Niederschläge, Zona fasciculata zwischen den Kolonnen nach ihrer Basis hin an einzelnen Stellen feine schwarze Punkte, die zuweilen als Streifen erscheinen. Im ganzen wenig Ablagerungen erkennbar!	a) und b) In der Zona glomerulosa keine gröberen Silberpartikel, nur hier und da kleinere zu kurzen Ketten angeordnet. In der Zona fasciculata gröbere Niederschläge, nach der Basis derselben hin zahlreicher, außerdem auch feinere Teilchen, die fast durchweg in kürzeren oder längeren Reihen zusammengelagert sind. Diese Reihen ziehen an den Rändern der Zellsäulen dieser Schicht entlang. Die Zona reticularis weist viel ganz feine Teilchen auf, die in kurzen Ketten meist parallel zur Oberfläche liegen; auch hier scheinen sie die Spalträume aus-

I.	II.
	zukleiden. Hier und da finden sich auch diese Teilchen zu lockeren Haufen zusammengeschart. Gröbere Konglomerate fehlen jedoch hier. Auch in der Marksubstanz bekleiden häufig sehr feine Teilchen die Wände von Spalträumen; außerdem finden sich hier auch massigere, rundliche Niederschläge.

6. Tierversuch (Kaninchen Nr. 9).

Einzelne bei dem 3. und 4. Versuch erhobene Befunde schienen darauf hinzudeuten, daß im Laufe der Zeit das an einzelnen Stellen des Organismus abgelagerte kolloidale Silber eine Zustandsänderung erleide und vielleicht abtransportiert werde. Um hierüber, wenn möglich, Aufschluß zu erhalten, mußte die Versuchsanordnung so getroffen werden, daß sein normaler Ablauf jedenfalls nicht durch die Wirkung einer zu großen Silberdosis gestört wurde. Es erhielt deshalb das Versuchstier, ein etwa 750 g schweres Kaninchen, 0,8 ccm eines 1,25 $^0/_0$igen stabilisierten Silberhydrosols, das aus kolloidalem Silber nach Carrey Lea hergestellt worden war, also 0,01 g dieses Präparats, das noch extra durch Zusatz einer Lösung von protalbinsaurem Natrium geschützt worden war. Dreimal 24 Stunden nach der Injektion wurde das Tier durch Nackenschlag getötet und sogleich obduziert. Irgendwelche ins Auge fallende Abweichungen vom normalen Befund waren nicht festzustellen, vielleicht waren Leber und Milz etwas dunkler gefärbt als sonst, eine Schwarzfärbung, wie bei den früher beschriebenen Versuchen fehlte. Lungen, Nieren und Nebennieren waren makroskopisch normal.

	I.	II.
Leber	a) Allgemeine Imprägnierung der Sternzellen, wie bisher, fehlt; gröbere Niederschläge sind nirgends erkennbar. b) Einzelne Sternzellen enthalten in geringer Menge schwarze Körnchen, viele scheinen ohne Niederschläge. An vielen Stellen	a) Deutlich schimmernde Stellen sind selten und entsprechen wohl durchweg den Sternzellen; die Teilchen liegen in ihnen bald vereinzelt, locker, bald dichtgefügt. b) Außerdem viel kleine helle Punkte in den Leberzellen, die

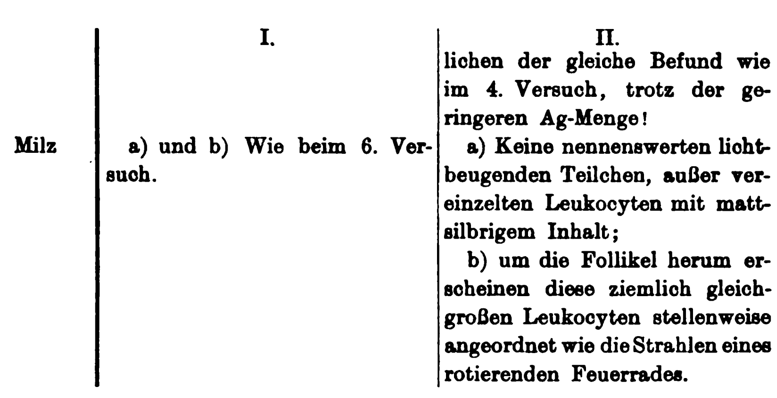
	I.	II.
	sind die Sternzellen eigentümlich aufgetrieben, wölben sich ins Lumen vor und sind zuweilen von bräunlich durchscheinendem Aussehen. Hier und da erscheinen feine schwarze Körnchen regellos über das Lebergewebe verstreut.	dem Verlauf der Kolonnen folgend, ihre Anordnung deutlich markieren.
Lunge	a) und b) Keine Ablagerungen oder sonstige Abweichungen.	a) Einzelne leuchtende Stellen, die aber wohl durchweg als Verunreinigungen anzusehen sind. b) Nur bei stärkster Vergrößerung wahrnehmbare außerordentlich feine, leuchtende Teilchen, fast durchweg in Reihen angeordnet; sie scheinen an den Verlauf organischer Gebilde gebunden zu sein und bisweilen ein feines Netzwerk zu bilden.
Nieren	a) Keine gröberen Niederschläge, besonders auch nichts in den Glomerulusschlingen. b) An einzelnen Stellen erscheint das Protoplasma der Nierenepithelien senkrecht zur Oberfläche gestreift, weist jedoch keinerlei Ablagerungen auf.	a) Die Kerne in den Glomerulis und an einzelnen Partien des Nierengewebes erscheinen schwach leuchtend. b) Außerdem weist das Nierenepithel im Bereich einzelner gerader und gewundener Kanälchen einen mattsilbernen Schimmer auf, der etwa der Form der einzelnen Epithelien entspricht. Körnchen sind jedoch nicht erkennbar (S.). Schließlich erkennt man im Bereich der Sammelröhrchen, anscheinend im Epithel gelegen, heller schimmernde Partien, die stellenweise granuliert erscheinen (S.).
Milz	a) und b) Keine Silberablagerungen mit Sicherheit zu erkennen.	a) und b) Gröbere lichtbeugende Niederschläge fehlen vollständig, einzelne rundliche, mattglänzende Gebilde, die anscheinend Leukocyten entsprechen.

7. Tierversuch (Kaninchen Nr. 10).

Am gleichen Tage, wie das vorherige Versuchstier, erhielt auch dies die gleiche Injektion. Das Tier stammte von dem-

selben Wurfe und hatte ebenfalls ein Gewicht von etwa 750 g. Fünf Tage nach der Injektion wurde das Tier getötet und seziert. Abgesehen von den bei Kaninchen häufigen zystischen parasitären Gebilden, bot die Leber ein durchaus normales Bild. Milz, Lungen, Nieren und Nebennieren erschienen makroskopisch normal.

	I.	II.
Leber	a) Wie beim vorigen Tierversuch. b) Mit schwarzen Teilchen beladene Sternzellen fehlen fast vollständig, die wenigen mit braunem Inhalt sind aufgetrieben, ragen stark ins Lumen vor und machen häufig den Eindruck, als wären sie überhaupt freie Leukocyten. Über das Protoplasma der Leberzellen verstreut finden sich zahlreiche feine, braune Körnchen.	a) An ganz wenigen Stellen findet man Sternzellen mit lb. Inhalt. Auch die braungefärbten unter ihnen scheinen keineswegs immer koll. Ag zu enthalten. b) Ein deutliches Markiertwerden der Kolonnen der Leberzellen durch leuchtende Ablagerungen in ihnen ist nirgends erkennbar. An einzelnen Stellen bemerkt man eine Anzahl schwach leuchtender Körnchen, die sich zuweilen in Form von kleinen Punktreihen anordnen. Man kann mit Sicherheit feststellen, daß nicht alle im Hellfeld wahrnehmbaren Körnchen im Dunkelfeld leuchtend erscheinen. Der Nachweis, daß diese Punktreihen, die im Dunkelfeld schwach leuchtend erschienen, Ag-Teilchen sind, ist nicht mit Sicherheit zu führen, aber die oben erwähnte Tatsache scheint auch dafür zu sprechen.
Lunge	a) und b) Keine Ablagerungen.	Wie I. a) und b).
Nieren	a) Keine Niederschläge in den Glomerulis oder in den Gefäßen. b) Protoplasma der Nierenepithelien hier und da getrübt, ohne deutliche Einzelheiten.	a) An einzelnen Stellen sind die Epithelien der gewundenen resp. geraden Harnkanälchen angefüllt mit kleinen, deutlich schwach silbern schimmernden Teilchen, an anderen Stellen hat das Protoplasma wohl einen weißlichen Schein, einzelne Teilchen sind jedoch hier nicht zu erkennen. Alles verschwindet bei Zusatz von $^1/_2$ $^0/_0$iger Cyankalilösung! Es ist also im wesent-



	I.	II.
		lichen der gleiche Befund wie im 4. Versuch, trotz der geringeren Ag-Menge!
Milz	a) und b) Wie beim 6. Versuch.	a) Keine nennenswerten lichtbeugenden Teilchen, außer vereinzelten Leukocyten mit mattsilbrigem Inhalt; b) um die Follikel herum erscheinen diese ziemlich gleichgroßen Leukocyten stellenweise angeordnet wie die Strahlen eines rotierenden Feuerrades.

Um eine klare Vorstellung über das Schicksal des kolloidalen Silbers in den einzelnen Organen zu bekommen, empfiehlt es sich, nun jedes einzelne für sich zu betrachten. Die umstehende Tabelle soll einen ungefähren Überblick ermöglichen; sie enthält kurz zusammengestellt die wesentlichen Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung sowohl im Hell- wie auch im Dunkelfelde.

Bei der Betrachtung der Leberpräparate von denjenigen Tieren, die etwa 4 bis 20 Stunden nach der Injektion des kolloidalen Silbers getötet wurden, finden wir zunächst die bereits von anderen Beobachtern gemachte Erfahrung bestätigt, daß die Hauptmasse des kolloidalen Silbers in der Leber zunächst in den Sternzellen festgehalten wird. Die Dunkelfelduntersuchung belehrt uns indessen, wie wir beim 1. Versuchstier sehen konnten, daß bereits 4 Stunden nach der Injektion in die Vene etwas von dem Silber in das Parenchym des Organes übergegangen ist. Sowohl bei dem 1. wie auch bei dem 5. Versuchstiere erscheinen die Granula der Leberzellen mit ultramikroskopischen Silberpartikelchen mehr oder weniger stark imprägniert. Ob die stärkere Imprägnierung in Versuch 5 mit der Art des injizierten Silbers oder der Tatsache in Zusammenhang steht, daß dieses Tier erst 16 Stunden später getötet und verarbeitet wurde wie das erste, ist zurzeit nicht zu entscheiden. Die eigentümliche Anordnung von feinsten Silberteilchen an einzelnen Stellen der Leber des 1. Versuchstieres, wo eine Reihe feiner, gleichmäßig leuchtender Pünktchen etwa über die Mitte der einzelnen Leberzellen hinzog, legt die Vermutung nahe, daß es sich hier um ein Übergehen

feinster Silberteilchen in die Gallengangscapillaren handelt. Bei dem 2. Versuchstiere, das eine außerordentlich große Menge Collargol innerhalb 1 Stunde intravenös injiziert erhielt, be-

	Leber	Lunge	Milz
1. 132 mg Ag in 20 ccm innerhalb 1 Stunde, nach weit. 3 Stdn. getötet.	Auf und in den Sternzellen viel grob ausgeflocktes Silber, außerdem auch ganz fein in Leberzellen. Ag sowohl in den Granulis als auch anscheinend in Gallengangscapillaren.	Gröbere und feine Ag-Ablagerungen anscheinend vorzugsweise in Leukocyten und auf einzelnen Kernen. (Dunkelfeld!)	Grobe Niederschläge in der Umgebung der Follikel, nur teilweise intracellulär, außerdem zahlreiche feinste, die sowohl im retikulären Gewebe wie auch in den Follikeln liegen.
2. 528 mg Ag in 80 ccm innerhalb 1 Stunde, nach weit. 3 Stdn. getötet.	In den Capillaren Emboli und freie Flocken von Ag in großer Zahl, sonst wie 1.	Massenhafte Emboli von Ag, feinere Partikel in Leukocyten, in oder auf d. Endothel u. Kernen. (Dunkelf.!)	Wie 1., nur erscheinen die feinsten Niederschläge in den Follikeln zahlreicher und vielfach in den Randpartikeln in Kreisen angeordnet.
3. 254 mg Ag in 40 ccm in 3 Tagen, am Abend des 4. Tages getötet.	Keine Emboli; in den Sternzellen, die häufig besonders aufgetrieben erscheinen, weniger grobe Partikelchen als bei 1. und 2., viel allerfeinste Teilchen auf oder im Endothel, auch in den Granulis.	Niederschläge von Ag, nur in den Leukocyten durchweg ziemlich fein. (Dunkelf.!)	Ähnlich wie 1. und 2., doch häufig feinere Partikel in rundl. Häufchen wohl in Leukocyten, feinste oft in zusammenhängender Schicht anscheinend Flächen bedeckend.
4. 198 mg Ag in 30 ccm innerh. v. 14 Tagen, 8 Tage nach der letzten Injektion getötet.	In Sternzellen scheinbar keine gröberen Ablagerungen, aber hier und da rundliche Ansammlungen gröberer, körniger Massen (in Gefäßbahnen?); feinste Teilchen auf dem Capillar- und Pfortaderendothel.	Wie in 3., aber spärlichere Niederschläge, die meist auch noch feiner sind.	Wenig schwarze Ablagerungen, stellenweise gröbere Ansammlungen brauner Massen, daneben noch feine und allerfeinste, letztere oft zu kurzen Ketten angeordnet.
5. 25 mg Ag in 10 ccm, 20 Stunden später getötet. R. u. Sch.	Wie bei 1., nur sind die Ablagerungen im ganzen zierlicher und zahlreicher; auch die Imprägnierung der Granula ist deutlicher.	Keine Emboli, rundliche Ansammlungen kleinster Silberteilchen in Leukocyten und auf Zellkernen. (Dunkelf.!)	Wie bei 1.

merkt man neben den ebenerwähnten Ablagerungen an zahlreichen Stellen deutlich gröbere Massen von ausgeflocktem Silber, die offenbar als Emboli einzelne Lebercapillaren verschließen.

Niere	Nebenniere	Dünndarm	Dickdarm	Ovarium
Gröbere Ag-Teilchen in den Glomerulis, (wohl Emboli!), feinere in den Gewebsspalten zwischen den Harnkanälch., deren Epith. streckenweise allerfeinste Teilchen enthält.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
Wie bei 1.	n. u.	In d. Follikeln enthalten die Leukocyten Ag-Teilchen, außerd. solche hier und da in d. Epithelien, häufig. im Zottenstroma.	Ag-Teilchen in Leukocyten u. im Stroma, anscheinend nicht im Epithel.	n. u.
Wenig in Glomerulis, reichlicher i. Epithel einer Reihe von gewundenen u. geraden Harnkanälchen als sehr feine Körnchen, außerdem gröbere zwischen den Harnkanälchen.	Gröbere Niederschläge zwischen den Kolonnen der Rindenzellen, besonders zahlreich im mittl. Drittel, feinste wohl in Leukocyten.	n. u.	n. u.	Gröbere Partikel zwischen den Bindegewebszügen bis zwischen die epithel. Elemente hin, feine in den Thekazellen.
In gewissen Partien ist die Membr. propria der geraden und gewundenen Harnkanälchen mit allerfeinsten Silberteilchen imprägniert; in den Räumen zwischen den Kanälchen etwas gröbere Teilchen.	Feine Ablagerungen hier und da zwischen den Kolonnen d. Rindenzellen, daneben allerfeinste wohl in Leukocyten zu Häufchen angeordnet.	n. u.	n. u.	Reichlich feine Niederschläge in den Bindegewebszügen, in einem frischen Corpus lut., 2 älteren, weniger zahlreich in d. Zellen der Theka int. Außerd. erschein. allerfeinste Ag-Teilchen, zu Häufchen angeord., bis in d. Ovulum zweier reif. Follikel vorgedrungen.
Nur allerfeinste Ablagerungen und Imprägnierung v. Zellkernen, teils in Glomerulis, teils jedenfalls in Leukocyten, stellenweise vielleicht an oder in Epithelien.	Wenig Ablagerungen, am meisten noch ganz feine in d. Zon. fascic., meist an d. Zellsäulen als Reihen entlang ziehend, doch auch bis in die Marksubstanz hinein.	n. u.	n. u.	n. u.

	Leber	Lunge	Milz
6. 10 mg Ag in 0,8 ccm, nach 3 × 24 Stdn. getötet. Carey Lea.	Keine gröberen Ablagerungen, einzelne Sternzellen mit feinen Körnchen, oft aufgetrieben, außerdem massenhaft allerfeinste Ablagerungen in den Leberzellen, als Imprägnierung der Granula mit Silber.	An einzelnen Stellen allerfeinste Partikelchen, in Reihen geordnet und anscheinend als Netzwerk einem organischen Gebilde folgend. (Dunkelf.!)	**Feinste Silberablagerungen, anscheinend nur in Leukocyten ziemlich selten.**
7. 10 mg Ag in 0,8 ccm, nach 5 × 24 Stdn. getötet. Carey Lea.	Sehr wenig in Sternzellen, auch die Leberzellen enthalten nur wenig Silberablagerung, stellenw. in Reihen auf d. Mitte einzelner Zellen.	Keinerlei Ablagerungen.	Nur wenig allerfeinste Teilchen, anscheinend in Leukocyten um die Follikel herum.

Die chemische Analyse hat bei diesem Tiere Ag in der Galle nachzuweisen vermocht und damit die Beziehung der oben beschriebenen strichförmigen Silberablagerungen auf die Gallencapillaren gerechtfertigt. Beim 6. und 7. Versuchstiere, die 3 und 5 Tage nach der Injektion einer relativ kleinen Menge kolloidalen Silbers getötet wurden, werden die gröberen Ansammlungen ausgeflockten Silbers in den Sternzellen vermißt, oder sind wenigstens im Vergleich zu den vorigen Präparaten äußerst selten. Dafür beobachtet man hier anscheinend in Gefäßbahnen liegend rundliche, körnige Gebilde, die für einen Abtransport des in der Leber niedergeschlagenen Silbers zu sprechen scheinen. Diese eigentümlichen kleinen Gebilde lösen sich weder in Salzsäure noch in Kalilauge, werden aber durch $^1/_2\,^0/_0$ige Cyankalilösung auch nur außerordentlich langsam zum Verschwinden gebracht, während eine $2\,^0/_0$ige Lösung sie verhältnismäßig schnell auflöst. Ob die Ursache für dieses Verhalten darin liegt, daß die Silberteilchen hier fester zu größeren Klumpen zusammengeballt sind, oder ob sie durch eine chemische Veränderung des Silbers bedingt wird, ist ohne weiteres nicht zu entscheiden. Während am dritten Tage die Imprägnierung der Lebergranula mit Silberteilchen trotz der geringen injizierten Menge Silberhydrosols noch sehr deutlich zu erkennen ist, scheint sie nach 5 Tagen nur noch gering zu sein. Aber auch bei diesem Tiere sind an einzelnen Stellen die Ablagerungen feinster Silberteilchen in Form von kurzen geraden

Niere	Nebenniere	Dünndarm	Dickdarm	Ovarium
Allerfeinste Ablagerungen scheinen hier u. da Epithelien wie bei 3. ganz zart zu füllen. Außerd. scheinen d. Kerne stellenweise m. Ag imprägn. Auch d. Sammelröhrchen enthalten vielleicht stellenw. Ag.	n. u.	u. u.	n. u.	n. u.
Niederschläge etwas deutlicher, anscheinend Vorstufe zu 3.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.

Ketten, die über die Mitte der Leberzellen den Gallencapillaren entsprechend verlaufen, zu erkennen. Beim 3. und 4. Versuchstiere sind Erscheinungen zu beobachten, die ebenfalls auf einen Abtransport des in den Sternzellen niedergeschlagenen Silbers hindeuten. Bei Nr. 3 muß man berücksichtigen, daß nach der ersten Injektion 4 Tage, nach der letzten jedoch nur reichlich 24 Stunden vergangen waren. Die Präparate wiesen demzufolge alle möglichen Übergänge auf zwischen den Erscheinungen, die sich einerseits beim 1. Versuchstiere zeigten und den beim 6. und 7. gefundenen Verhältnissen andererseits. Bei dem 4. Versuchstier, das erst 8 Tage nach der letzten Injektion verarbeitet worden war, bemerkte man in den Sternzellen so gut wie keine Silberablagerungen mehr, statt dessen fielen auch hier wie bei Nr. 6 und 7 die eigentümlichen rundlichen Anhäufungen grobkörniger Massen ins Auge, die sich anscheinend in Gefäßbahnen befanden. Abweichend von allen sonst an Leberpräparaten gemachten Beobachtnngen war der Befund, daß auf oder in dem Endothel verschiedener Capillaren und feinerer Pfortaderäste sich deutlich allerfeinste Silberteilchen abgelagert hatten, die nur im Dunkelfelde zu erkennen waren. (Dieser Versuch zeigt, wie wir weiterhin sehen werden, auch noch gewisse Besonderheiten.) Sowohl bei Nr. 3 wie bei Nr. 4 ist die Imprägnierung der Lebergranula mit allerfeinsten Silberteilchen im Dunkelfelde außerordentlich schön zu erkennen.

Die Lungenpräparate der verschiedenen Versuchstiere zeigen im ganzen wesentlich weniger Verschiedenheiten. Bereits 4 Stunden nach Beginn der Injektion fanden sich beim 1. Versuchstiere die Silberniederschläge fast ausschließlich im Inneren von Leukocyten. Abgesehen davon, daß beim 2. Versuchstier auch in der Lunge sich massenhafte Silberemboli fanden, weisen die mikroskopischen Präparate eigentlich nur quantitative Unterschiede in den Silberablagerungen auf; bei Nr. 4 und 6 begegnen wir weniger mit Silber beladenen Leukocyten in der Lunge, auch erscheinen die Niederschläge hier noch feiner als in den anderen Präparaten. Man bekommt überhaupt den Eindruck, als würden die Silberablagerungen in den Leukocyten mit der Dauer der nach der Injektion verstrichenen Zeit immer feiner; die relativ groben, im Hellfeld noch deutlich erkennbaren Niederschläge sind schon bei Nr. 5, also 20 Stunden nach der Injektion in ihrer Menge außerordentlich reduziert. Bei Nr. 7, also 5 Tage nach der Injektion einer relativ kleinen Silbermenge konnten trotz sorgfältigen Suchens auch mit Hilfe der Dunkelfeldmethode Silberablagerungen in Leukocyten der Lungenpräparate nicht mehr mit Sicherheit nachgewiesen werden. Zu berücksichtigen ist allerdings auch hierbei, daß in den Versuchen 5, 6 und 7 ein anderes kolloidales Silberpräparat verwendet worden ist als in den vier vorhergehenden Versuchen. Es ist also einstweilen auch mit der Möglichkeit zu rechnen, daß die Verschiedenheit der Niederschläge in den Leukocyten durch die Art des Silberhydrosols bedingt wird. Dabei dürfen wir a priori nicht annehmen, daß der Unterschied in der durchschnittlichen Teilchengröße das Ausschlaggebende sei, es müßte vielmehr auch die Natur des im Präparat enthaltenen Schutzkolloids bei einer derartigen Erwägung in Rechnung gezogen werden. Es muß einer Reihe von Parallelversuchen vorbehalten bleiben, über einen eventuellen Zusammenhang zwischen dem injizierten Silberhydrosol einerseits und der Art der Ausflockung der Silberteilchen andererseits Aufklärung zu bringen.

In der Milz ist die Anordnung der Silberniederschläge in der Zeit zwischen der 4. und 20. Stunde nach der Injektion im wesentlichen folgende: Die gröberen Niederschläge befinden sich ausschließlich in der Pulpa als unregelmäßig geformte, massige und flockige Gebilde; man bekommt den Eindruck, als ob

dieselben bereits im Blutstrome entstanden und hier liegen geblieben seien. Mehr rundlich geformte, etwas kleinere Silberablagerungen finden sich häufig intracellulär durch die ganze Pulpa verstreut. Dazwischen erkennt man sehr viel feinere schwarze Partikelchen über die ganze Pulpa hin verteilt, die eben noch mit starker Vergrößerung im durchfallenden Lichte wahrzunehmen sind. Eine große Menge allerfeinster Silberteilchen sind nur im Dunkelfelde als ganz feiner leuchtender Staub zu sehen. Dieser letztere findet sich außer in der Pulpa auch in den Randpartien der Malpighischen Körperchen, wo sie häufig einen deutlichen Ring zu bilden scheinen. Bei dem 6. und 7. Versuchstier findet man keine groben Niederschläge mehr in der Pulpa, sondern sieht nur sehr feine Silberteilchen, die oft nur im Dunkelfeld erkennbar sind und innerhalb von zelligen Gebilden, Leukocyten, liegen. Bei dem 3. Versuchstier, das zwischen Nr. 1, 2 und 5 einerseits und Nr. 6 und 7 andererseits gewissermaßen ein Übergangsstadium darstellt, erkennt man zwar noch vereinzelte gröbere Ablagerungen, doch gewahrt man hier die rundlichen Anhäufungen kleiner Silberteilchen in Leukocyten bereits in ziemlich großer Anzahl. Beachtenswert erscheint bei diesem Versuche, wie auch bei dem Dauerversuche (Nr. 4), daß allerfeinste Partikelchen nicht selten in Form von Ketten oder Punktreihen angeordnet sind. Es handelt sich hier um Ablagerung dieser feinsten Teilchen an der Oberfläche im retikulären Bindegewebe. Im ganzen bekommt man den Eindruck, als ob mit der Zeit die gröberen Ablagerungen — wohl durch die Tätigkeit von Phagocyten — aufgelöst würden und auf diese Weise wieder in die Zirkulation kämen. Auffallend erscheint, daß bei den beiden Dauerversuchen Nr. 3 und 4 sich nur Ablagerungen feinster Silberteilchen im retikulären Gewebe finden. Da Nr. 1 und 2 Silbermengen injiziert erhalten haben, die gleichgroß, oder noch größer waren wie die bei diesen beiden Tieren verwandten, muß diese Erscheinung wohl mit der Tatsache in Beziehung gebracht werden, daß diese Tiere erst längere Zeit nach der Injektion untersucht worden sind.

In den Nieren finden sich in den Glomerulusschlingen beim 1. und 2. Versuchstiere ziemlich reichlich, beim 3. weniger gröbere Silberniederschläge, die wohl als Silberemboli zu deuten

sind. Ob dieselben durch die Menge des injizierten kolloidalen Silbers bedingt worden sind, oder durch besondere Eigentümlichkeiten gerade des Collargols, ist nach den mir vorliegenden Präparaten nicht mit Sicherheit zu entscheiden. In den Spalträumen zwischen den einzelnen Harnkanälchen ist nicht nur bald nach der Injektion bei Nr. 1 und 2, sondern auch bei 3 und 4 ein Niederschlag von feineren Silberteilchen wahrnehmbar. Bei Nr. 5, das verhältnismäßig wenig Silber injiziert bekommen hat, sind Silberablagerungen selbst im Dunkelfeld nicht zu finden, dagegen fällt hier ein eigentümliches Leuchten zahlreicher kernartiger Gebilde auf (Zellkerne), und zwar nicht nur in den Glomerulis, sondern auch in den Spalträumen zwischen den Harnkanälchen. Da dieser Schimmer ausschließlich bei der Behandlung der Schnitte mit Cyankalilösung verschwindet, muß man annehmen, daß es sich hier um eine Imprägnierung der Kerne einzelner Endothelien und vielleicht auch Leukocyten mit allerfeinsten Silberteilchen handelt. Daß die Epithelien der geraden und gewundenen Harnkanälchen einen Teil des injizierten kolloidalen Silbers in sich aufnehmen können, beweisen die beim 3. Versuchstiere erhobenen Befunde. Ähnliche Bilder, in denen jedoch die einzelnen lichtbeugenden Teilchen unendlich viel kleiner sind, bekommt man auch in Präparaten von den Versuchstieren 1, 2, 5, 6 und 7 zu sehen, doch ist es hier wegen der außerordentlichen Feinheit dieser Teilchen nicht möglich, mit absoluter Sicherheit den Beweis zu führen, daß es sich auch hier überall um Silberteilchen handelt. Auch über diesen Punkt muß die Entscheidung späteren, besonderen Versuchen überlassen werden, doch scheint mir das überaus klare und absolut eindeutige Verhalten der Niederschläge innerhalb der Epithelien bei Nr. 3 uns zu berechtigen, einstweilen auch in den anderen Versuchen diese feinen Teilchen innerhalb der Epithelien als Silber zu betrachten. Sehr interessant und von allen anderen Befunden abweichend ist das Bild, welches die Schnitte aus der Niere des 4. Versuchstieres uns bieten, wenn wir dieselben im Dunkelfeld untersuchen: scheint doch hier die Membrana propria in erster Linie der Ort zu sein, wo das Silber sich niedergeschlagen hat. Die Epithelien der Harnkanälchen selber weisen keinerlei Silberteilchen auf. Auch das

Vorkommen von Silberablagerungen in den Septen zwischen den Sammelröhrchen in der Nähe der Papille beim 6., und weniger auch beim 7. Versuchstiere dürfte nicht ohne Interesse sein.

Die Nebennieren, die nur beim 3., 4. und 5. Versuchstiere untersucht wurden, weisen wenig Verschiedenheiten auf. Der einzige Unterschied dürfte wohl in der Größe der Ablagerungen zu sehen sein, denn bei Nr. 3 sind zwischen den Kolonnen der Rindenzellen auch im Hellfelde deutlich Silberablagerungen erkennbar, während solche bei Nr. 4 und 5 nur im Dunkelfelde wahrnehmbar sind. Im ganzen sind diese Niederschläge so angeordnet, daß sie die Zellreihen begleiten und gewissermaßen als mehr oder weniger feiner Staub zu bedecken scheinen. Die allerfeinsten Teilchen finden sich häufig zu rundlichen Gruppen angeordnet, anscheinend innerhalb von Leukocyten.

Versuchen wir aus den vorstehenden Beobachtungen uns eine Vorstellung von dem Schicksal des intravenös injizierten kolloidalen Silbers im Organismus zu machen.

Leber	Lunge	Milz	Nieren
Sternzellen. Granula. Gallencapillaren (cf. Anal. v. 2!) bei Inj. größerer Mengen Emboli 1, 2, 5. Abtransport des ausgeflockten Ag durch Wanderzellen (wandernde Sternzellen?), allmähliche Verminderung der Ag-haltigen Sternzellen, während die Imprägnierung der Gran. zunächst unverändert bleibt oder gar zunimmt, Silberteilchen auch jetzt noch in den Gallengangscapillaren 3, 4, 6, 7. Schließlich scheint auch aus den Gran. das Ag allmählich zu verschwinden, da nicht mehr alle im Dunkelfeld leuchten. 7.	Gröbere Ablagerungen in den Capillaren, bei Inj. großer Mengen außer dort auch in Leuk. zu finden 1 u. 2. Niederschlag feiner und feinster Partikelchen auf Kernen (D) 1. 2, 5, vielleicht auch auf das Endothel. 2. Später nur feinste Teilchen in Leukocyten 3, 4, 6, und verschwinden ganz 7.	Grobe Ag-Flocken in der Pulpa, feinere dazwischen und auch in der Periph. der Malp.-Körperchen 1, 2, 5, 6. Übergang feiner Flocken frei in d. Pulpa, gröbere u. feine Niederschläge intracellulär 4. Allerfeinste Teilchen das retik. Gewebe stellenweise bedeckend 3 u. 4. Allmählich verschwinden die groben Ablagerungen immer mehr, nur feine in Leukocyten 6 u. 7.	Ablagerungen in der Glom. nur bei größeren Mengen 1 u. 2, etwas bei 3. Ablagerung in den Epithelien der gew. u. ger. Harnkanälchen am deutlichsten nach wiederholter Inj., am vierten Tag nach der ersten Inj. (3), mehr oder weniger erkennbar aber schon bei 1, 2, 5, sowie auch bei 6 u. 7 (vgl. Hinweis auf die Schwierigkeiten der Feststellung). Zwischen den Kanälchen etwas gröbere Teilchen 1, 2, 3, 4 (größere Mengen Ag injiziert). Imprägnierung einzelner Zellkerne resp. Gruppen 1, 2, 5, 6, 7. Ag-Teilchen in Leukocyten in den Interstitien 5. Imprägnierung der Membra propria gewisser Gruppen von Harnkanälchen 4. Ag in den Septen zwischen einzelnen Sammelröhrchen. 6, 7.

In der Leber: Einige Stunden nach der Injektion Hauptmenge des Ag in den Sternzellen, aber bereits 4 Stunden p. inj. auch Spuren davon in der Granula und in den Gallencapillaren. Übergroße Mengen kolloidalen Silbers lassen auch Emboli von ausgeflocktem Ag entstehen. Die in die Sternzellen aufgenommenen Ag-Niederschläge verschwinden allmählich, und zwar scheinen die Sternzellen sich wenigstens zum Teil in das Capillarlumen als Wanderzellen abzustoßen. Ein Teil des in die Leberzellen gelangten Silbers geht in die Galle über, wie sowohl die mikroskopischen Bilder als auch die Analyse von Nr. 2 zeigen. Am längsten bleibt das Silber in resp. auf den Granulis; doch ist auch hier eine allmähliche Abnahme zu erkennen. Auf oder in dem Endothel von Capillaren und kleineren Pfortaderästen nur bei Nr. 3 Ag-Ablagerungen, die anscheinend mit den an aufeinanderfolgenden Tagen wiederholten Injektionen zusammenhängen.

In der Lunge: Bald nach der Injektion gröbere Flocken in Phagocyten, außerdem ev. Emboli (s. o.), feinere Teilchen auf Zellkernen niedergeschlagen. Alle diese Ablagerungen verschwinden aber bald und man findet nur relativ feine Teilchen überall in den Leukocyten, wobei aber nicht zu entscheiden ist, ob diese von den Ablagerungen in der Lunge stammen oder dorthin geschleppt sind. (Es wurde bei Nr. 3 analytisch im Blute Ag nachgewiesen!)

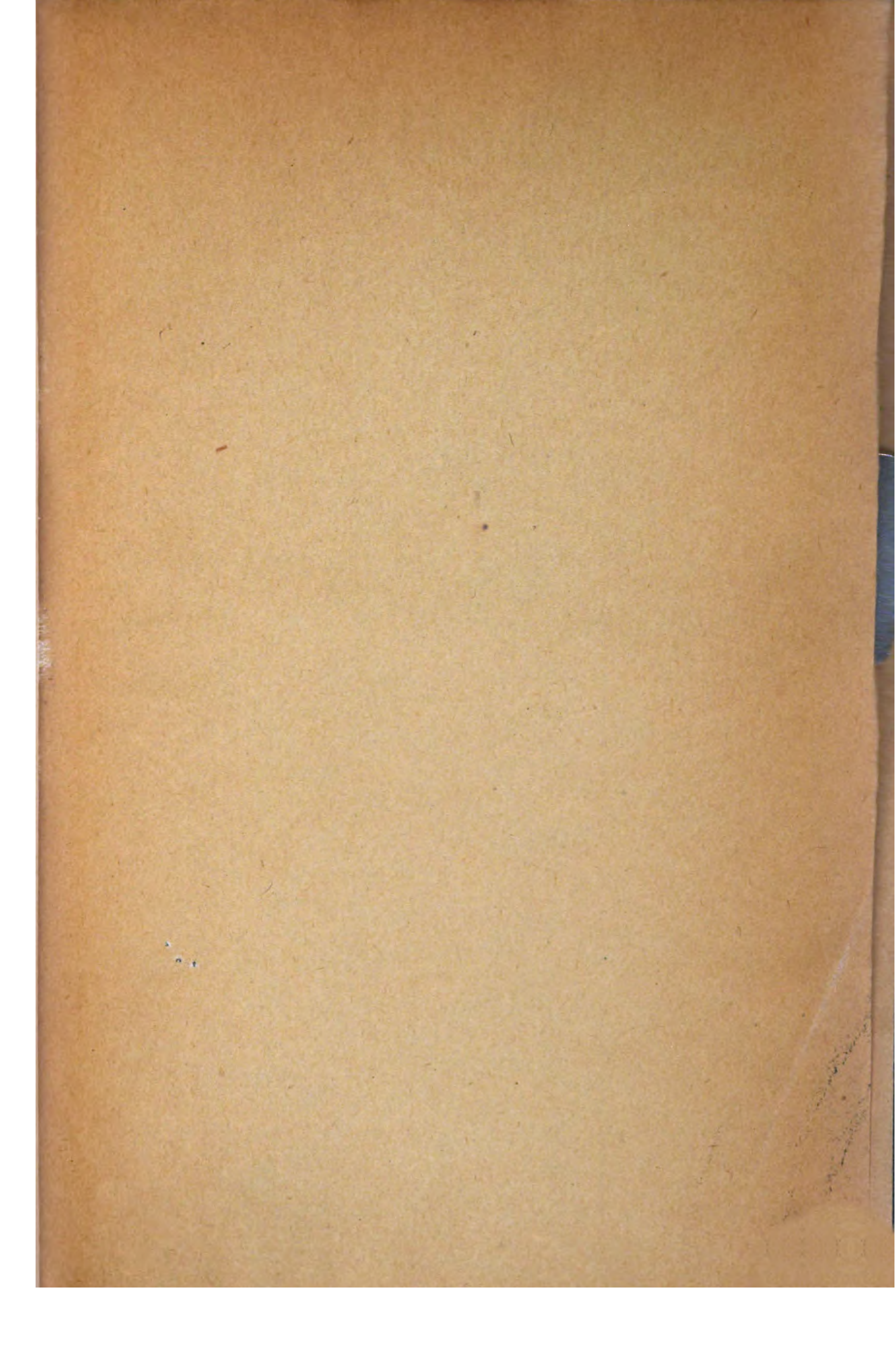
In der Milz findet man zunächst neben sehr feinen Ag-Ablagerungen auch wesentlich gröbere frei in der Pulpa liegen; zum Teil werden diese Phagocyten aufgenommen und erscheinen dann im Hellfeld als unendliche Häufchen bräunlicher, gekörnter Massen. Später finden sich in der Milz nur sehr feine Teilchen (Dunkelfeld), die teils intracellulär gelegen, teils die Oberfläche des Reticulum zu bekleiden scheinen.

In den Nieren erscheinen die Silberablagerungen zuerst in den Spalträumen zwischen den geraden Harnkanälchen, außerdem bei Injektion größerer Mengen auch in den Glomerulusschlingen als Emboli; diese verschwinden aber hald wieder. Auffallend ist die Tatsache, daß bei allen Versuchstieren, außer dem erst 8 Tage nach der ersten Injektion getöteten (Nr. 4), auch an verschiedenen Stellen einzelne Zellkerne — anscheinend von Endothelien — mit feinsten Ag-Teilehen imprägniert sind.

Ein Übergang von Ag in die Epithelien der geraden und gewundenen Harnkanälchen findet ziemlich schnell statt, doch ist er frühzeitig deutlich erkennbar nur bei Injektion größerer Mengen von kolloidalem Ag, am ausgesprochensten aber nach täglich wiederholter Injektion mittlerer Mengen (Nr. 3). Diese Bilder machen alle den Eindruck, als handle es sich um einen direkten Ausscheidungsvorgang, dessen Anfänge bereits 4 Stunden nach der Injektion wahrnehmbar sind. Die Imprägnierung der Propria 8 Tage nach der letzten von 6 Injektionen mit 1 bis 3 Tagen Zwischenraum macht dagegen mehr den Eindruck, als würde im Blute befindliches gelöstes oder kolloidales Ag hier zurückgehalten. Man kann jedoch hierin auch ein Zeichen einer Rückresorption von Ag sehen, das gelöst in die Harnkanälchen gelangt.

Autorenverzeichnis.

Bernardi, Alessandro, und Emma Fabris. Über das Pepton. II. S. 436. III. S. 441.
Beysel, Wilhelm, und Walther Löb. Beiträge zur Frage der Glykolyse. IV. S. 368.
Bieling, R., siehe Morgenroth und Bieling.
Bodnár, J., siehe Doby und Bodnár.
Dietrich, Walter, siehe Völtz und Dietrich.
Doby, G., und J. Bodnár. Über Pflanzenenzyme. III. S. 191.
Erlenmeyer, Emil. Asymmetrische Synthese der Mandelsäure, Entstehung von Benzylidenweinsäureester und Benzylidenweinsäure. S. 351.
Fabris, Emma, siehe Bernardi und Fabris.
Gammeltoft, S. A., siehe Hasselbalch und Gammeltoft.
Grafe, V. Untersuchungen über die Zichorie. S. 1.
Grimmer, W. Beiträge zur Kenntnis der Hundemilch. S. 311.
Hasselbalch, K. A., und S. A. Gammeltoft. Die Neutralitäts regulation des graviden Organismus. S. 206.
— und J. Lindhard. Zur experimentellen Physiologie des Höhenklimas. II. S. 265. III. S. 295.
Herzfeld, E. Beiträge zur Chemie der proteolytischen Fermente. S. 402.
Hirschfeld, L., und R. Klinger. Beiträge zur Physiologie der Blutgerinnung. IV. S. 163.
Jacoby, Martin, und N. Umeda. Über die Einwirkung von Serum und von Aminosäuren auf Ureasen. S. 23.
Jolles, Ad., und Erw. Schwenk. Beitrag zur Darstellung des indoxylschwefelsauren Kaliums (Indican). S. 347.
Klinger, R., siehe Hirschfeld und Klinger.
Krauß, Friedericke. Über die Wassermannsche Reaktion im normalen Menschenserum. S. 48.
Lindhard, J., siehe Hasselbalch und Lindhard.
Löb, Walther, siehe Beysel und Löb.
Mc Kelvie, James P., und Jacob Rosenbloom. Über den Cholesterinstoffwechsel in einem Falle von angeborener hämolytischer Gelbsucht mit Splenomegalie. S. 78.
Meissner, Richard. Über die quantitative Bestimmung der Milchsäure in Organextrakten als Kohlenoxyd. S. 175.
Morgenroth, J., und R. Bieling. Amboceptoren und Receptoren. I. S. 85.
Pechstein, Heinrich. Die Reaktionen des ruhenden und arbeitenden Froschmuskels. S. 140.
Rosenbloom, Jacob, siehe Mc Kelvie und Rosenbloom.
Salkowski, E. Zur Kenntnis einiger Formaldehydreaktionen. S. 337.
Scaffidi, Vittorio. Über die Fähigkeit der normalen und der der fettigen Degeneration verfallenen überlebenden Froschleber, Zucker zu bilden. S. 320.
Schwenk, Erw., siehe Jolles und Schwenk.
Thorsch, Margarete. Untersuchungen über die 3. Komponente des Komplements. S. 67.
Umeda, N., siehe Jacoby und Umeda.
Vanýsek, Fr. Berichtigung. S. 350.
Voigt, J. Über die Verteilung und das Schicksal des kolloiden Silbers im Säugetierkörper. III. S. 477.
Völtz, Wilhelm, und Walter Dietrich. Über die Geschwindigkeit der Alkoholresorption und -oxydation durch den an Alkohol gewöhnten, bzw. durch den nicht daran gewöhnten tierischen Organismus. S. 118.
Zahn, Kurt. Über das Schicksal des Papaverins im tierischen Organismus. S. 444.




ALF Collections Vault
3 0000 091 338 883